T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. H. Yekta GÜRLERTOP

BÖLGEMİZDE KORONER ARTER HASTALIĞINDA ENOS GENİNİN GLU 298-ASP VE T786-C POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Yücel KAÇMAZ

EDİRNE – 2015

TEŞEKKÜR

Kardiyoloji uzmanlık eğitim sürecimde bilgi ve deneyimimi arttırmamda önderlik eden Kardiyoloji ABD başkanı Prof. Dr. Kenan Yalta'ya, tüm öğretim üyelerine, asistan arkadaşlarıma, Kardiyoloji Kliniği hemşire ve çalışanlarına, tezimin ilk yöneticiliğini yapan Doç. Dr. Nasır SİVRİ'ye, ihtisas dönemim boyunca ve tez çalışmam sırasında değerli fikirleriyle bana yol gösteren, hocam Prof. Dr. H. Yekta GÜRLERTOP'a, tezim konusunda katkıda bulunan Biyofizik ABD'de görevli Dr. Ayhan ÜNLÜ'ye ve değerli aileme içtenlikle teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

- **KORONER ARTER HASTALIĞI TANIMI** 3
- **KORONER ARTER HASTALIĞI EPİDEMİYOLOJİSİ** 3
- **ATEROSKLEROZ** 4
- **KORONER ARTER HASTALIĞI RİSK FAKTÖRLERİ** 6
- **KORONER ARTER ANATOMİSİ** 12
- **KORONER ARTER HASTALIĞINDA TANI** 13
- **KORONER ANJİOGRAFİ** 13
- **NİTRİK OKSİT TARİHÇESİ, YAPISI VE ÖZELLİKLERİ** 15
- **NİTRİK OKSİT SENTAZ YAPISI,ÖZELLİKLERİ,İZOFORMLARI** 16
- **NİTRİK OKSİTİN KARDİYOVASKÜLER SİSTEME ETKİLERİ** 18
- **KALITIM VE GENETİK POLİMORFİZM** 19
- **ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT SENTAZ GENİ VE ÖZELLİKLERİ** 20

GEREÇ VE YÖNTEMLER 23

BULGULAR 30

TARTIŞMA 40

SONUÇLAR 46

ÖZET 49

SUMMARY 50

KAYNAKLAR 51

EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

% **:** Yüzde
Ach **:** Asetilkolin
AHA **:** American hearth association (Amerikan kalp derneği)
Asp **:** Aspartat
AV **:** Atriyoventriküler
bç **:** Baz çifti
BH_4 **:** Tetrahidrobiyopterin
Ca **:** Kalsiyum
CaM **:** Kalmodulin
cm **:** Santimetre
CRP **:** C reaktif protein
Cx **:** Circumflex
DNA **:** Deoksiribonükleik asit
DM **:** Diyabetes mellitus
EDRF **:** Endotelden elde edilen gevşeme faktörü
EKG **:** Elektrokardiyogafi
EKO **:** Ekokardiyografi
ENOS **:** Endoltelyal nitrik oksit sentaz
ESC **:** Avrupa Kardiyoloji Derneği
ESH **:** Avrupa Hipertansiyon Derneği
FAD **:** Flavin adenin dinükleotid
Fe **:** Demir
FMN **:**Flavin mono nükleotid

Glu : Glutamat
Gp : Glikoprotein
Hb : Hemoglobin
HDL-K : Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol
HL : Hiperlipidemi
HT : Hipertansiyon
ICAM : İntraselüler hücre adezyon molekülü
IL-β : İnterlökin beta
İNOS : İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
KABG : Koroner arter bypass greft
KAG : Koroner anjiyografi
KAH : Koroner arter hastalığı
KB : Kan basıncı
kD : Kilo dalton
KVH : Kardiyovasküler hastalık
LAD : Sol ön inen
LDL-K : Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol
LMCA : Sol ana koroner arter
L-ARG : L-arjinin
Lpa : Lipoprotein a
MCP : Monosit kemoaktraktan protein
MI : Miyokart infarktüsü
mmHg : Milimetre civa
MPO : Myeloperoksidaz
NADPH : İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NCEP : Ulusal kolesterol eğitim merkezi
NO : Nitrik oksit
NOS : Nitrik oksit sentaz
NNOS : Nöronal nitrik oksit sentaz
PDA : Posteriyor inen arter
PKG : Perkutan koroner girişim
PZR : Polimeraz zincir reaksiyonu
RCA : Sağ koroner arter
Rs : Araştırmacılar tarafından kullanılan polimorfizm erişim numarası
TG : Trigliserid

TNF-α **:** Tümör nekroz faktör alfa

VCAM **:** Vasküler hücre adezyon molekülü

VKİ **:** Vücut kitle indeksi

GİRİŞ VE AMAÇ

Koroner arter hastalığı (KAH), aterosklerotik ve nonaterosklerotik nedenlerle oluşan, tutulan arterin kanlandırdığı miyokart alanında iskemi ile karakterize, ani ölüm, stabil veya unstabil angina pectoris (USAP), akut miyokart infarktüsü (AMI), ileti bozukluğu ve benzeri klinik bulguları olan, tüm dünyada en önemli mortalite ve morbidite nedeni olmaya devam eden bir hastalıktır (1).

Yaşam tarzı değişiklikleri ile modifiye edilebilen sigara, obezite, fiziksel inaktivite, yaşam tarzı değişiklikleri ve/veya ilaçlarla modifiye edilebilen lipid bozuklukları, hipertansiyon (HT), diyabetes mellitus (DM), insülin rezistansı, modifiye edilemeyen risk faktörleri olan yaş, cinsiyet ve aile hikayesi, yeni risk faktörleri olarak nitelendirilen lipoprotein a (Lp a), homosistein, c-reaktif protein (CRP) ve fibrinojen aterosklerozun başlangıcında ve progresyonunda önemli roller oynamaktadır (2-5).

Nitrik Oksit (NO) endotelyumdan salgılanan önemli bir mediyatör olup, endotelyal disfonksiyonunda ilk olarak, NO aracılığı ile olan endotel bağımlı vazodilatasyonun bozulması izlenir. NO üretimi veya aktivitesindeki bozukluğun endotelyal disfonksiyonunun mekanizması olduğu ve aterosklerozu tetiklediği öne sürülmektedir (6).

Memeli hücrelerde nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS; NOS-I), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS; NOS-II) ve endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS; NOS-III) olmak üzere üç farklı nitrik oksit sentaz (NOS) izoformu tanımlanmıştır. NOS türleri hem bulundukları hücre tipleri hem de NO'in miktarı, moleküler hedefleri ve işlevleri bakımından farklılıklar gösterirler. Nitrik oksit sentaz izoenzimlerinin hepsinin ortak ürünü NO'dur (7).

Bu güne kadar eNOS geninin intron, ekzon ve promotör bölgelerinde varyasyonlar tanımlanmıştır. İntronlarda, bir tanesi intron 18'deki Ala27Cys, diğeri ise intron 23'teki Gly10Thr olmak üzere iki tek nükleotid polimorfizmi bulunmuştur. İntron 4, 13, 23'te de bazı tekrar değişiklikleri tanımlanmıştır. eNOS geninin 5'flanking bölgesinde bağlantılı Thr786Cys, Ala922Gly, Thr1468Ala olarak adlandırılan üç tane mutasyon tanımlanmıştır. T-786 C; genin promotör bölgesindeki 786 numaralı timin (T) bazı ile sitozin (C) bazının yer değiştirdiği nokta mutasyonu olarak ifade edilmesidir. Glu298-Asp (G894T) ekzon polimorfizmi, eNOS geninin ekzon 7'sinde, 894. pozisyondaki guanin (G) bazının, timin (T) bazı ile yer değiştirmesi sonucu meydana gelir. Bu durumda normalde eNOS geninde 298. pozisyonunda ifade edilen glutamat (Glu) amino asiti yerine, aspartat (Asp) amino asiti yerleşmiş olur. Serebrovasküler hastalık (SVH), KAH, miyokart infarktüsü (MI) gibi ateroskleroz sonucu gelişen hastalıklar ile alzheimer, migren ve HT gibi birçok hastalıkta Glu 298-Asp veya T-786 C polimorfizmlerinin ilişkisi olduğunu düşündüren çalışmalar yapılmıştır (8-11).

Çalışmamızda hastanemiz Kardiyoloji kliniğinde KAH ön tanısı ile koroner anjiyografi (KAG) endikasyonu alan olgularda; eNOS geninin Glu298-Asp (Rs1799983) ve T-786C (Rs2070744) polimorfizmleri ile KAH ilişkisini araştırarak, KAH'nın gelişmesinde rol oynayan genetik faktörlerin aydınlatılmasına katkıda bulunmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

KORONER ARTER HASTALIĞI TANIMI

Aterosklerotik kaynaklı kardiyovasküler hastalık (KVH) sınıfında olan KAH, periferik arter hastalığı ve SVH dünya genelinde mortalite ve morbitenin önde gelen nedenidir. KAH, aterosklerotik ve nonaterosklerotik nedenlerle oluşan, tutulan arterin kanlandırdığı miyokart alanında iskemi ile karakterize, ani ölüm, stabil angina pektoris veya USAP, AMI, ileti bozukluğu ve benzeri klinik bulguları olan bir hastalıktır (1).

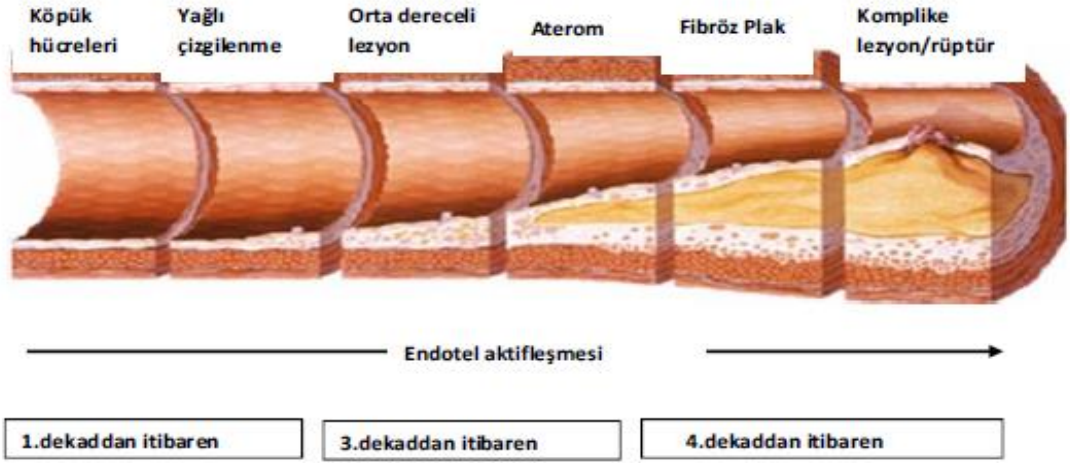
KORONER ARTER HASTALIĞI EPİDEMİYOLOJİSİ

TEKHARF (Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri) çalışması KAH'ın Türkiye'deki durumu hakkında bilgi vermektedir. Ülkemizde KVH insidansı bin kişi yılında 20 olarak izlenmiş, koroner nedenli mortalite bin kişi başına erkeklerde 5.5, kadınlarda ise 3.5 olarak gözlenmiştir (12).

ATEROSKLEROZ

Tanım

Ateroskleroz, genetik kodlarımız ile intrauterin hayatta iken kodlanan, ergenlik dönemlerinde fenotopik olarak başlangıç yapan ve yaşla ilerleme özelliği bulunan bir hastalıktır (13) (Şekil 1).



Şekil 1. Ateroskleroz erken yaşlarda itibaren gelişimi (14)

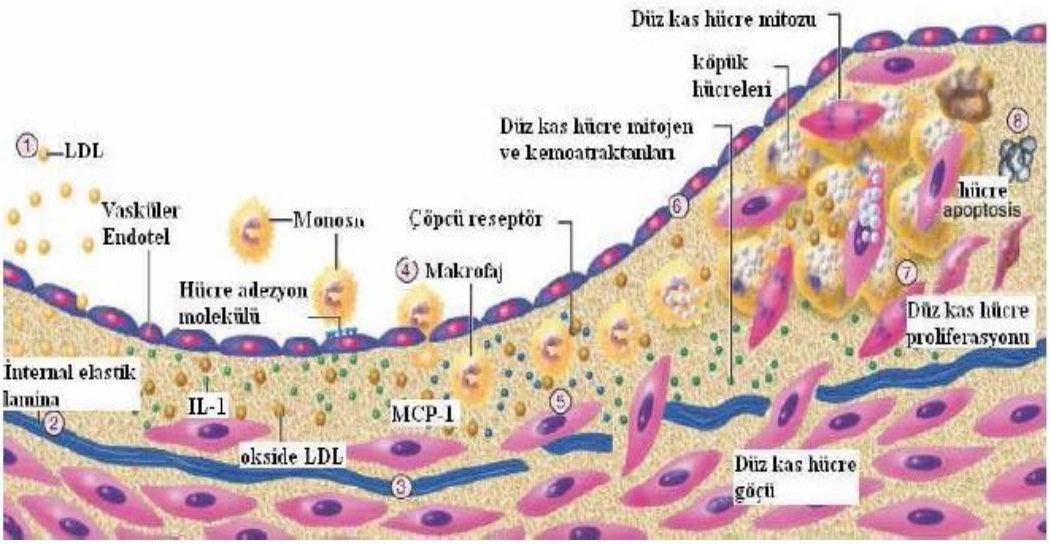
Ateroskleroz; büyük ve orta boyuttaki arterlerin, temel olarak intima tabakasına yerleşen, kesintisiz bir süreçtir. Genel tanımı bu olmakla birlikte, bütün arter yatağı aterosklerozdan eşit düzeyde etkilenmez. Koroner arterleri, karotisleri, willis poligonu ve özellikle abdominal aortu, renal arterleri ve alt ekstremite arterlerini daha çok tuttuğu gözlenmiştir (15).

Patogenez

Ateroskleroz; lipidler, makrofajlar, fibroblastlar, düz kas hücreleri ve hücre dışı maddeleri değişik oranlarda içeren intimada plak gelişimi ile sonlanan, sonrasında lokal vasküler hasar, inflamasyon, oksidatif stres ve vasküler kalsifikasyonu içeren dinamik bir süreçtir. Bu sürecin ilk basamağı endotel disfonksiyonu ve hasarıdır. Endotel hasarını lipid birikimi, trombosit ve lökosit adezyonu izlemektedir. Hasara uğramış endotel üzerine adheze olan hücreler inflamatuar bir süreç başlatarak endotel hasarını daha da arttırır. Bu süreç içerisinde hasarlı endotel hücreleri aktive olarak adhezyon moleküllerini eksprese ederler. Etrafa sitokinler, kemokinler ve endotel kaynaklı büyüme faktörleri salarak düz kas hücrelerinde proliferasyonla birlikte inflamatuar yanıtın artışına neden olurlar. Salgılanan kemotaktik maddeler monositlerin hasarlı alana göçüne yol açar. Hasarlı alana göç eden monositler dokuya geçerek makrofajlara dönüşürler. Makrofajlar interlökin1-beta (IL-1β), tümör nekroz faktör-alfa (TNF-α) gibi sitokinler salgılayarak endotele daha çok düşük dansiteli lipoprotein (LDL) geçmesine ve daha çok lökosit ve platelet göçüne neden olurlar. Sitokinler lökositlerin bağlanması için gerekli adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu indükledikleri gibi intima içine göç etmeleri için kemoatraktan molekülleri de tetiklemektedir.

Dolaşan monositler, monosit kemoatraktan protein (MKP-1) gibi kemoatraktan sitokinlere yanıt olarak arter duvarı içine girerler, çöpçü reseptörlerin ekspresyonunu artırabilen makrofaj koloni uyarıcı faktör (MKSF) gibi uyarılarla karşılaşırlar. Çöpçü reseptörler modifiye lipoprotein partiküllerinin tutulumuna aracılık eder ve köpük hücrelerinin gelişmesini teşvik ederler. Makrofajların intimada okside LDL'yi fagosite etmesiyle birlikte köpük hücresi oluşur. Makrofaj köpük hücreleri ileri dönem sitokinlerin kaynağıdır. Mediadan intima içine göç eden düz kas hücreleri proliferatif özellik kazanır ve hücre dışı matriksi oluşturarak giderek plakta büyümeyi artırabilirler. Daha sonraki evrelerde kalsifikasyon oluşabilir ve fibröz devam eder. Bazen bu duruma düz kas hücre ölümü eşlik edip lipitten zengin, ölen veya ölmekte olan hücreler ve döküntülerini içerebilen bir çekirdek etrafında, göreceli olarak hücreden yoksun kapsüle yol açarlar (şekil 2). Sonuç olarak endotel disfonksiyonu, yani endotelin kan ile damar duvarı arasındaki seçici geçirgen, antitrombotik ve antiagregan tabaka olma fonksiyonunu sürdürememesi durumu, vazodilatasyon ile vazokonstriksiyon, trombojenite ile trombolizis, antiproliferasyon ile proliferasyon arasındaki denge bozukluğu ile sonuçlanır (16-18).

Makrofajların intimada okside LDL'yi fagosite etmesiyle birlikte köpük hücresi oluşumu ve intima altında erken evrede görülen yağlı çizgilenmeler (fatty streaks) ile başlayan ateroskleroz sürecini fibröz plak gelişimi izler. Trombüs gelişimine yol açan fissür, ülserasyon, anevrizma gelişimi ve sekonder kalsifikasyon gelişimi; bu plakların neden olduğu komplikasyonlardır. Bu komplikasyonlara bağlı olarak damar cidarında daralma ile kronik ya da akut olarak uç organ perfüzyonu bozulur (16). Koroner ateroskleroza bağlı gelişen koroner lümendeki daralma miyokartın ihtiyaç-sunum dengesini bozduğu takdirde iskemi ile sonuçlanır. Bu olay, akut olarak lümendeki kısmi ya da tam oklüzyon nedeni ile olursa akut koroner sendrom (AKS)'dan bahsedilir. Miyokartın oksijen ihtiyacının arttığı durumlarda daralmış lümen ve/veya endotel disfonksiyonu ile miyokarta yeterince perfüzyon sağlanamadığı durum ise stabil bir süreçtir. Burada olay lümenin tıkanması değil; miyokarta ihtiyacı olan oksijenin, koroner arterlerce, gerek yapısal gerekse fonksiyonel bozukluklar nedeni ile yeterince karşılanamamasıdır (19).



Şekil 2. Aterosklerotik plak evriminin şeması (18)

LDL: Düşük dansiteli lipoprotein, **IL-1β**: İnterlökin1-beta, **MKP-1**: Monosit kemoatraktan protein, **TNF-α**: Tümör nekroz faktör-alfa

KORONER ARTER HASTALIĞI RİSK FAKTÖRLERİ

Koroner arter hastalığının aterosklerotik risk faktörleri Tablo 1'de tanımlanmıştır.

Tablo 1. Ateroskleroz risk faktörleri (5)

Geleneksel Risk faktörleri		**Yeni Risk faktörleri**
Değiştirilemeyen faktörler	**Değiştirilebilir faktörler**	
Yaş	Hipertansiyon	Homosistein
Cinsiyet	Dislipidemi	CRP
Aile öyküsü	Sigara	Fibrinojen
	Diyabetes Mellitus	D-dimer
	Obezite	Lipoprotein (a)
	Sedanter yaşam	

Yaş

Ateroskleroz oluşumu ve AKS gelişimi için en güçlü bağımsız risk belirteci yaştır (3). Erkeklerde ≥45 yaş, kadınlarda ise ≥55 yaş üstünde olmak KAH için risk faktörü olarak kabul edilmektedir (4,20). Ülkemizde yapılan TEKHARF çalışmasında, yaşın en önemli bağımsız risk faktörü olduğu ve her bir yaş artışında KAH riskinin erkeklerde %6.6, kadınlarda ise %4.7 arttığı belirtilmiştir (21).

Cinsiyet

Her iki cinste de majör risk faktörleri aynı olmasına rağmen ateroskleroz erkeklerde daha önce başlamaktadır. Buna bağlı olarak kadınlarda aterosklerozun ciddi komplikasyonları da erkeklere göre daha ileri yaşlarda görülmektedir (22,23). Erkekler arasında her bir dekad ile risk artışı gözlenir. Premenapozal dönemdeki kadınlar ile kıyaslandığında erkekler, yaklaşık 10 yaş erken KAH ile karşılaşmaktadır. Postmenapozal dönemde ise risk kadınlar için artmakta fakat yaş grupları arası değerlendirme yapıldığında bu risk erkeklerden daha düşük kalmaktadır (3). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda genç kadınlarda da mortalite ve morbidite sebepleri arasında koroner arter hastalıklarının giderek arttığı izlenmektedir. Bunun sebebinin kadınlar arasında obezite, metabolik sendrom ve sigara içiciliğinin giderek artması olduğu düşünülmektedir (23).

Diyabetes mellitus

Diyabetli hastalarda KVH en önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Tip 2 diyabetlilerde özellikle KAH riski non-diyabetiklere göre 2-4 kat daha yüksektir. Bu hastaların %60-75'i makrovasküler olaylar nedeni ile kaybedilir. Diyabetlide ateroskleroz daha erken yaşlarda ortaya çıkar, multisegmenter tutulumlu ve daha yaygındır.

Diyabetes mellitus; tip-1 ve tip-2 DM olarak sınıflandırılır. 2013 Türk Endokrinoloji Derneği'nce yayınlanan kılavuza göre DM insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki defektler nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinden yeterince yararlanamadığı, kronik bir metabolizma hastalığıdır. Diyabet tanısı; 8 saatten uzun süren açlık sonrası kan şekerinin ≥126 mg/dL (7.0 mmol/L) veya 75 gram oral glukoz tolerans testinde 2. saatte ölçülen plazma glukoz değerinin ≥200 mg/dL (11.1 mmol/L) olmasına, diyabet semptomlarına rastgele ölçülen ≥200 mg/dl plazma glukoz değeri eklenmesine, Hb A1c değerinin ≥6.5 (48 mmol/mol) olmasına dayanarak konur.

Diyabetes mellitus, KAH'nın bağımsız bir risk faktörüdür. 2013 Türk Endokrinoloji Derneği'nin yayınladığı kılavuzda KAH için yüksek risk kabul edilen hastalar tanımlanmıştır. Yaşı ≥45 olan erkek ve ≥50 olan kadın diyabetliler ile ayrıca yaşı <45 olan erkek ve <50 olan kadın diyebetlilerde aşağıda tanımlanan hastalıklardan en az birinin olması;

1.Makrovasküler hastalık (sessiz miyokart infarktüsü, sessiz iskemi, periferik arter hastalığı, karotis arter hastalığı veya serebrovasküler olay)

2.Mikrovasküler hastalık (özellikle nefropati ve retinopati)

3.Koroner arter hastalığı açısından çok sayıda ilave risk faktörleri bulunması (ailevi erken koroner olay veya birinci derece akrabalarda serebrovasküler olay)

4.Tek bir risk faktörünün aşırı derecede olması (örneğin LDL-K>200 mg/dl veya kan basıncı (KB) >180 mmHg)

5.Diyabet süresi uzun (>15 yıl) olan 40 yaş üzeri diyabetliler (24).

Hipertansiyon

Hipertansiyon; sistolik kan basıncının (SKB) ≥140 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncının (DKB) ≥90 mmHg olarak tanımlanmaktadır. Genel toplumda HT prevalansı %30-45 arasında değişmekte ancak yaşlanmayla birlikte keskin bir artış gözlenmektedir (25).

Ülkemizde HT sıklığını araştıran Türk Hipertansiyon Prevelans çalışmasının 2004 yılında sunulan sonuçlarına göre; HT oldukça yaygın bir hastalık sorunudur ve erişkin her 3 kişiden 1'inde HT bulunmaktadır (26).

Hipertansiyon sadece KAH için değil aynı zamanda kalp yetersizliği, periferik arter hastalığı, inme ve böbrek yetersizliği için de çok önemli bir risk faktörüdür. Bütün aterosklerotik kardiyovasküler olayların %35'inden HT sorumludur. Kan basıncında yükselme endotel fonksiyonlarında bozulmaya yol açarak ateroskleroz patogenezinde rol almaktadır. Yapılmış çalışmalarda kan basıncındaki azalmanın kardiyovasküler olaylarda azalmaya neden olduğu görülmüştür (27).

Hiperlipidemi

Dünya genelinde 52 ülkeden hastaların dahil edildiği ve büyük bir vaka-kontrol çalışmasında (the INTERHEART study), kan kolesterol seviyesi yüksekliğinin aterosklerotik KVH için bağımsız risk faktörü olduğu tanımlanmıştır (28).

Total kolesterole (TK) göre aterosklerotik KVH'larda daha kuvvetli ilişkisi nedeni ile tedaviye başlama ve hedeflere ulaşma açısından düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K) seviyeleri dikkate alınmaktadır. Çeşitli yöntemlerle LDL-K düzeylerinin düşürülmesi KVH mortalite ve morbitesinde azalma sağlar. Riskin artışı kolesterol yüksekliğinin derecesi ile doğrusal ilişkili olduğu gibi, riskin azalması kolesterol düzeyindeki azalmanın derecesi ile ilişkilidir (29).

Hiperlipidemi (HL); serum total kolesterolün ≥200 mg/dl, serum LDL kolesterolünün ≥130mg/dl olmasıdır (30). Plazma total kolesterol seviyesinde %10 azalma, 5 yıllık KAH insidansında %25 azalma ile ilişkilidir. Ayrıca LDL-K seviyesinde 40 mg/dL' lik azalma

kardiyovasküler olaylarda %20 oranında azalma sağlamaktadır (31). Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-K) damar duvarındaki kolesterolü toplayıp katabolizmasını hızlandırarak plak oluşumuna karşı koruyucu etki göstermektedir (32). KAH riski ile ilişkili metabolik sendromun bir parçasıda artmış plazma TG (>150 mg/dl) ve düşük HDL-K seviyeleridir (5).

Sigara

Sigara dünya genelinde önlenebilir ölüm nedenlerinin yarısından sorumludur ve bu ölümlerin %50'si KVH nedenlerine bağlıdır (33).

Sigara içenlerde ölümcül olmayan miyokart infarktüsü riski içmeyenlere oranla yüksek bulunmuştur (34). Aynı çalışma daha genç yaş grubunda (35-39 yaş) bu oranın çok daha yüksek olduğunu, ölümcül olmayan MI riskinin erkeklerde 4.9, kadınlarda 5.3 kat arttığını göstermiştir. Sigara ayrıca kalp yetmezliği gelişim riskini ve atriyal fibrilasyon (AF) insidansınıda artırmaktadır (35,36). AKS tanısı alan genç hastalarda sigara içme oranı %77 olup, bu oran oldukça yüksektir (37).

Sigara kullanımı; trombositleri aktive eder, dolaşımdaki fibrinojen miktarını kalp hızını ve kan basıncını yükselterek, plak hasarını hızlandırır. Sigara içiminin süresi ve günlük tüketilen miktar, KAH riskini belirgin etkilemektedir. Bir günde tüketilen sigara sayısı ile MI riski arasında direkt ilişki bulunmuştur (5). Sigara kullanımının bırakılması ile KAH'a bağlı olaylarda düşüş gözlenir (38).

Aile hikayesi

Birinci derece erkek akrabalarda <55 yaşta, birinci derece bayan akrabalarda <65 yaşında KAH varlığı; KAH için risk faktörü olarak kabul edilir (30). Erken yaşta KAH olan akraba sayısı arttıkça ve koroner arter hastalığının saptanma yaşı azaldıkça, risk daha çok artar (39).

Obezite ve metabolik sendrom

National Health Center for Health Statistics obezite tanımını kg/boy(metre)^2 olarak tanımlanan vücut kitle indeksi (VKİ) değerini kullanarak tanımlamıştır. Obeziteyi erkekler için VKİ ≥27.8, kadınlar için VKİ ≥27.3 olarak tanımlar. Abdominal obezitenin göstergesi olan bel-kalça oranı KAH için daha doğru bir öngördürücüdür. Santral obezite her iki cinsiyette artmış KAH riski ile ilişkili metabolik sendromun bir parçasıdır (5).

Metabolik sendom tanısında American Heart Association (AHA) ve International Diabetes Federation (IDF) kriterleri uygulanır;

1.Abdominal obezite (bel çevresi) erkek >102 cm; Kadın >88 cm

2.Trigliserid (TG)>150 mg/dl (1.7 mmol/L) veya hipertrigliseridemiye yönelik ilaç tedavisi alıyor olmak.

3.HDL-K; erkekte<40 mg/dl (1.0 mmol/L) veya kadında<50 mg/dl (1.3 mmol/L) veya düşük HDL-K için ilaç tedavisi alıyor olmak.

4.Sistolik kan basıncı >130 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncı>85mmHg veya hipertansiyon tanısı alan bir hastanın antihipertansif ilaç tedavisi alıyor olması.

5.Açlık glukozu >100 mg/dl (5.6 mmol/L) veya hiperglisemi ilaç tedavisi alıyor olmak.

Bu kriterlerden üç veya fazlası metabolik sendrom tanısı koydurur (30,40).

Sedanter yaşam

Epidemiyolojik çalışmaların metanalizleri KAH ve buna bağlı ölümlerin sedanter yaşayanlarda 2 kat fazla olduğunu gösterir. American Heart Association (AHA) tercihen her gün 30 dakika ve daha uzun süreli, orta şiddette fiziksel aktivite önermektedir (5).

Egzersizin KAH önemli risk faktörleri olan dislipidemi üzerine belirgin olumlu etkileri mevcuttur. HDL-K düzeyini artırır, TG ve apolipoprotein B (Apo B) düzeylerini azaltır. LDL-K plazma seviyelerinde değişiklik yapmadığı kabul edilmekle birlikte partikül boyutlarında değişiklik yaparak LDL-K'ü daha az aterojenik forma dönüştürür (41,42). HDL-K ve TG düzeyi üzerine etki, vücut ağırlığındaki azalmadan bağımsız olarak gerçekleşmektedir (43).

Düzenli fiziksel aktivite kalp kasının oksijen ihtiyacının azalmasına, egzersiz kapasitesinin artmasına ve sonuç olarak miyokart iskemisinin azalmasına neden olmaktadır (44).

C-Reaktif Protein

Bağımsız bir risk faktörüdür. Okside LDL'ye bağlanarak arteryel duvardaki çöpçü makrofaj hücrelerine LDL alımını uyararak; aterosklerotik süreci pekiştirir. Physicians'Health çalışmasında en yüksek CRP değerlerindeki erkeklerin, en düşük olanlara kıyasla 3 kat ve daha fazla MI riskine ve 2 kat ve daha fazla iskemik inme riskine sahip olduğu bulunmuştur. Kadınlarda bu farklılık daha belirgin gözlenmiştir; kardiyovasküler olayların relatif riski CRP

değeri en yüksek kadınlarda, en düşük olanlara göre 4.4 kat fazladır. Yükselmiş CRP düzeylerine sahip hastalarda artmış ani kardiyak ölüm riskide mevcuttur (5,45).

Lipoprotein a

Düşük dansiteli lipoproteine yapıca benzer bir lipoprotein olup aralarındaki fark apolipoprotein A (Apo A) içermesindendir. Aterosklerotik lezyonlara bağlanır, köpük hücre prekürsörleri tarafından hücre içine alınır. Fibrine bağlandığında trombozu uyarabilir ve plazminin fibrinolitik aktivitesini engeleyebilir. Gençlerde ve hiperlipidemisi olan bireylerde Lpa; KAH öngermede daha iyidir. Kardiyovasküler risk, Lp a değeri >30 mg/dl olduğunda yükselmektedir (5).

Homosistein

Folat metabolizmasının bir ürünüdür. Sülfür içeren bir aminoasit olan Metiyonin'den köken alır. Folik asit, vitamin B6 ve B12 kofaktör olarak kullanıldığı yolaklarda metabolize edilir. Yükselmiş plazma homosistein düzeyleri vasküler hastalık için bağımsız risk teşkil eder. Bu risk ilk defa homosistinüri adı verilen yüksek serum homosistein düzeyi ile seyreden kalıtsal sistatyonin-β-sentaz eksikliğinde gösterildi. Homosistein düzeyi <10μmol/L olanlara kıyasla, >15μmol/L olanlarda inme, MI için relatif risk faktörü yaklaşık 2 dir. Hiperhomosisteinemide endotelyal hücrelerden NO salınımını bozması, aterojenik düz kas hücrelerinin çoğalmasına yol açması, protein C aktivasyonu aracılığıyla trombogeneze katkıda bulunması, riskin nedenleri arasında sayılabilir (5,46-48).

Fibrinojen ve D-Dimer

Karaciğerde sentezlenen büyük bir glikoprotein olan fibrinojen; glikoprotein IIb/IIIa reseptörü aracılığı ile trombosit agregasyonunu ve düz kas çoğalmasını uyarır. Plazma fibrinojen düzeyi >350 mg/dl olması, inme ve MI için önemli bağımsız bir risk faktörüdür. Yüksek fibrinojen düzeyi KAH için riskte 2-3 kat artışa neden olur. Yüksek fibrinojen düzeyinin belirleyicileri ileri yaş, kadın cinsiyet, sigara kullanımı, obezite, stres, oral kontraseptif kullanımı, gebelik, Afro-amerikan ırk, menapoz, yüksek yağ içeren besin tüketimidir. D-dimer, dolaşımdaki fibrin yıkım ürünlerini gösterir. Şüpheli venöz tromboembolik olay değerlendirmesinde tanıların dışlanmasında güçlü klinik kullanıma sahiptir (4,5).

Miyeloperoksidaz

Miyeloperoksidaz (MPO); nötrofil ve monositlerin aktivasyon ve degranülasyonu sırasında salınan, enzimatik aktivitiye sahip bir proteindir. Acil serviste göğüs ağrısı ile gelen hastalarda, miyokardiyal nekroz gelişmemiş olsa bile serum MPO düzeylerinin 30. gün ve 6. aydaki MI riskini öngördüğü gösterilmiştir (49).

Lipid dışı genetik faktörler

Bir ailede MEF2A (myocyte enhancer factor 2A) transkripsiyon faktörünü kodlayan gendeki 7 aminoasidin delesyonunun; KAH ve MI için otozomal dominant yatkınlık oluşturduğu gösterilmiştir (50,51).

Trombospondinler hücre adezyonu, vasküler bütünlük ve trombozda merkezi rol oynayan glikoprotein ailesidir. Trombospondin genlerindeki SNP'ler (Simple Nucleotide Polymorphism) prematür ateroskleroz ve MI ile ilişkili bulunmuştur (5).

KORONER ARTER ANATOMİSİ

Sol ana koroner arter (LMCA) sol sinüs valsalvadan çıkar. Sol ventrikülün ön yüzünü besleyen sol ön inen artere (LAD) ve sol ventrikül lateral yüzünü besleyen sol sirkumfleks (Cx) artere ayrılır. Bazende LMCA sol ventrikül yüksek lateralini besleyen ramus intermediusu vermek üzere üçe ayrılabilir (52).

Sol ön inen arter; anterior interventriküler oluk boyunca seyreder, septumu beslemek üzere septal perforan dalları ve anterolateral duvarı beslemek üzere diagonal dalları vererek apekse kadar uzanır (5).

Sirkumfleks arter; sol atriyoventriküler oluk boyunca ilerler, sol atriyuma atriyal dalları ve sol ventrikülün lateral duvarını besleyen değişik sayıda marjinal dalları verir. Cx arterin dominans olduğu hastalarda Cx arter posterior interventriküler oluğa ulaştığında posterior inen arter (PDA) adını alır (5).

Sağ koroner arter (RCA) sağ sinüs valsalvadan çıkar, sağ atriyoventriküler (AV) oluk boyunca ilerler (5). Sağ ventrikül ile sol ventrikülün alt yüzünü besler, sağ atriyuma küçük dallar ile sağ ventriküle marjinal dallar verir (52). Konus dalı ilk dal olarak proksimal RCA'dan kaynaklanır, sağ ventrikül çıkım yolunu besler; vakaların yaklaşık yarısında konus dalı ayrı ostiyumdan çıkar. Sağ dominans olan birinde distal RCA ilk major dalı PDA dır(5).

Dominans terimi; posterior duvarı besleyen posterior inen arteri veren arter olarak tanımlanır. Hastaların yaklaşık %85 inde RCA dominans, %8 dominans Cx arterdir, %7 kodominans Cx ve RCA'ya sahiptirler (5,52).

KORONER ARTER HASTALIĞINDA TANI

Koroner arter hastalığını öngördüren birçok non-invaziv test vardır. Bunlar arasında; miyokart perfüzyon sintigrafisi, egzersiz stres testi, stres ekokardiyografi (EKO) sayılabilir. Son yıllarda karotis intima media kalınlığı, epikardiyal yağ doku kalınlığı gibi henüz araştırma aşamasında olan yöntemler üzerinde çalışılmaktadır. Koroner anjiyografi (KAG); KAH tanısında hala altın standart yöntemdir (53).

KORONER ANJiYOGRAFi

İlk selektif KAG 1958 yılında Ohio'daki Cleveland Klinik'te kardiyolog olarak çalışan Dr. F. Mason Sones, Jr. Tarafından yapılmıştır (54).

Koroner anjiyografinin en önemli avantajı girişimsel uygulamalara da izin veren bir yöntem olmasıdır. Periferik bir arterden yerleştirilen kateterin koroner arter orijinine ilerletilmesi ve kateter içerisinden verilen radyopak maddeler ile x-ray altında koroner arter lümen ve anatomisinin radyografik olarak görüntülenmesi yöntemidir. KAG primer olarak obstruktif koroner arter hastalığının tanısında ya da klinik olarak doğrulanmışsa tedavi yöntemine karar vermede kullanılır (55).

Koroner anjiyografide temel amaç koroner arterleri, yan dallarını, KAH varsa tedavi planına yönelik olarak damar dallanmaları, yan dal orjinleri, ciddi lezyon bulunan bölge proksimali ve lezyonların uzunluk, kenar düzensizliği gibi karakteristik özellikleri görüntülemektir (56).

Koroner arter hastalığı şüphesi olan hastalarda tanıya yönelik koroner anjiyografi endikasyonları en son 2013 ESC (European Society of Cardiology) Kararlı Koroner Arter Hastalığı Yönetimi kılavuzunda (Tablo 2) tanımlanmıştır (57).

Tablo 2. Kararlı angina pektoriste koroner anjiyografi endikasyonları (57)

Sınıf-I Öneriler
Kanada Kardiyovasküler Derneği (CCS) sınıflandırması 3 ve üzeri, özellikle semptomlar tıbbi tedaviye yeterli yanıt vermiyorsa, test öncesinde hastalık olasılığı yüksek olan hastalar veya tıbbi tedavi ile asemptomatik hastaların non invaziv testinde yüksek olay işareti olanlar (Kanıt düzeyi B)
Kardiyak arrest geçirip sağ kalanlar (Kanıt düzeyi B)
Ciddi ventriküler aritmileri olan hastalar (Kanıt düzeyi C)
Daha önce miyokart revaskülarizasyonu (PKG, KABG op) uygulanan, erken olarak orta şiddette veya şiddetli angina pektoris yinelemesi görülen hastalar (Kanıt düzeyi C)
Sınıf IIa öneriler
İnvazif olmayan testlerde kesin tanıya yönelik bir sonuç alınamayan ya da değişik non-invazif yöntemlerle çelişkili sonuçlar elde edilen, koroner hastalık riski orta-yüksek düzeyde olan hastalar (Kanıt düzeyi C)

CCS: Kanada Kardiyovasküler Derneği, **PKG:** Perkutan koroner girişim; **KABG:** koroner arter bypass greft.

ST segment elevasyonlu MI (STEMI) ile başvuran hastalarda primer perkutan koroner girişim (PKG); öncesinde fibronilitik tedavi yapılmadan, acil perkutan koroner girişim olarak tanımlanır. Reperfüzyon amaçlı KAG işlemi yapılır. 2012 yılında yayınlanan ST-segment yükselmeli akut miyokart infarktüsü ile başvuran hastaların tedavisine ilişkin ESC kılavuzu'nda koroner anjiografi endikasyonları Tablo 3'te gösterilmiştir (58).

Tablo 3. ST-segment yükselmeli akut miyokart infarktüsü ile başvuran hastalarda koroner anjiyografi endikasyonları (58).

Sınıf-I öneriler
Reperfüzyon tedavisi, 12 saatten kısa süreli belirtileri ve ısrarcı ST-segment yükselmesi veya yeni sol dal bloğu olan tüm hastalarda endikedir (Kanıt düzeyi A)
Reperfüzyon tedavisi, belirtiler 12 saatten eski dahi olsa, devam eden iskemi kanıtları varsa veya ağrı ve EKG değişiklikleri geçip tekrar başlıyorsa endikedir (Kanıt düzeyi C)
Sınıf-IIb öneriler
PKG ile reperfüzyon tedavisi, belirtiler başladıktan 12 ile 24 saat sonra başvuran stabil hastalarda düşünülebilir (Kanıt düzeyi B)

EKG: Elektrokardiyografi, **PKG:**Perkutan koroner girişim

2011 yılında yayınlanan Israrcı ST-segment yükselmesi olamayan akut koroner sendrom ile başvuran hastaların tedavisine ilişkin ESC kılavuzu KAG endikasyonları Tablo 4 'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Israrcı ST-segment yükselmesi olamayan akut koroner sendrom ile başvuran hastalarda koroner anjiyografi endikasyonları (59)

Sınıf-I öneriler
İnvazif stratejinin (ilk semptomların ortaya çıkışından sonraki 72 saat içinde) gerekli olduğu hastalar: en azından bir yüksek risk kriterinin varlığı (Troponinde anlamlı artış/düşüş veya dinamik ST veya T dalga değişiklikleri); veya yinelenen semptomlar (Kanıt düzeyi A)
İskemi riski çok yüksek hastalarda (kalp yetersizliği, yaşamı tehdit edici ventriküler aritmiler veya hemodinamik kararsızlığın eşlik ettiği refrakter angina) acil (2 saat içinde) olarak (Kanıt düzeyi A)
GRACE skoru >140 olan veya en azından bir birincil yüksek risk kriteri olan kişilerde erken dönemde (24 saat içinde) invaziv strateji önerilir. (Kanıt düzeyi A)

Koroner arter lümen içi darlık derecesi LAD, Cx, RCA'da %50 üzerindeyse, LMCA'da ise %50 ve üzerinde ise ciddi olarak sınıflandırılır (60).

NİTRİK OKSİT

Tarihçesi

Furchgott ve Zawadzki isimli araştırıcılar 1980 yılında endotel hücrelerinin ürettiği bir faktörün damar gevşemesine neden olduğunu bildirmiş ve bu faktöre endotelyumdan elde edilen gevşeme faktörü (EDRF) adını vermişlerdir (61). Sonraları Palmer ve arkadaşları bu kimyasal yapısının NO olduğunu ortaya koymuşlardır (62).

Yapısı ve Özellikleri

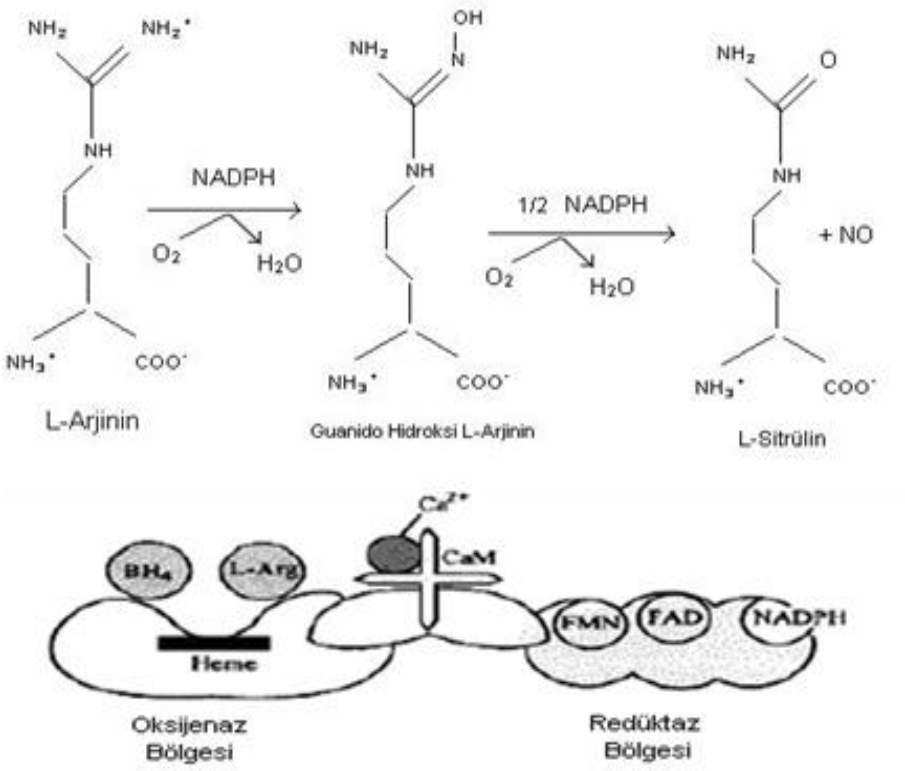
Nitrik oksit, membranlardan kolayca geçebilen, küçük bir molekül olup 6-30 saniye yarılanma ömrü olan bir gazdır. Nitrik oksit sentaz (NOS) enzim ailesi tarafından, endojen bir aminoasit olan L-argininin terminal guanidin grubunun NO'ya çevrilmesiyle üretilir (63,64) (Şekil 3).

Nitrik oksit, oksijen ve süperoksitle tepkime vermesinden dolayı dokularda çok kısa ömürlüdür. Solüsyonlarda hızla okside olarak nitrit (NO_2) ve nitrata (NO_3) dönüşür (65). NO; suda ve yağda çözünür. Bu şekilde hücrelerin çevresinde serbestçe diffüze olabilir. NO ve O2 reaksiyona girerek her biri nitrojendioksit ve peroksinitrit gibi kuvvetli okside moleküle dönüşür. Oluşan bu molekül potansiyel olarak NO'in kendisinden daha toksiktir ve doku hasarına yol açabilir (66).

NİTRİK OKSİT SENTAZ

Nitrik oksit sentaz (NOS) fonksiyonel olarak iki farklı bölgeye, N-terminal oksijenaz bölgesi ve C-terminal redüktaz bölgesine sahiptir. Redüktaz bölgesi, indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mono nükleotid (FMN) ve kalmodulin (CaM) için bağlanma bölgeleri içerir. Katalitik bölge içeren N-terminal oksijenaz bölgesi, L-arjinin, tetra hidro biyopterin (BH_4) ve hem molekülü için bağlanma bölgeleri içerir. NOS enziminin tam işlev görebilmesi için oksijenaz ve redüktaz bölgelerinden oluşan monomerlerin birleşerek dimerleşmesi gerekmektedir. Bu iki bölgenin kenetlenmesi kalmodulin sayesinde gerçekleşir. NADPH'nın dehidrojenasyonu ile elde edilen elektronlar, redüktaz bölgesindeki flavinlere (FAD ve FMN) geçerler, oradanda oksijenaz bölgesindeki hem molekülüne transfer olurlar (Şekil 3). Bu elektron transferi kalmodulinin, kalsiyum aracılığı ile spesifik bağlanma bölgesine bağlanması sonucu aktive olmasıyla gerçekleşir (67).

Enzimin dimerik hale gelmesi "hem" molekülünün bağlanması ile başlar; "hem" molekülünün yokluğunda enzim monomer halde kalır. Dimerik halde enzime BH_4 bağlanabilir ve dimeri kararlı hale getirir, kararlı hale geçiş aynı zamanda çinko iyonları ile de sağlanır. eNOS dimerinin fonksiyonel aktivitesi BH_4 moleküllerinin bağlanma sayısına bağlıdır. Yüksek seviyede BH_4 varlığı ise doymuş bir dimer oluşturarak yalnızca NO sentezleyen bir enzim oluşmasını sağlar (67). Oluşan NO kolayca endotelden geçer, çok kısa yarı ömürlü olması nedeniyle, kanda hemoglobinin "hem" grubu ile etkileşerek nitrit (NO_2) ve nitrata (NO_3) okside olur. Nitrat, NO'nun kandaki stabil biyoreaksiyon ürünüdür (65).



Şekil 3. NOS yapısı ve sentezi (68)

BH4: Tetrahidrobiyopterin, **L-Arg:** L-Arjinin, **CaM:** Kalmodulin, **FMN:** Flavin mononükleotid, **FAD:** Flavin Adenin Dinükleotid, **NADPH:** Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat.

Nitrik Oksit Sentaz İzoformları

Memeli hücrelerde nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS; NOS-I), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS; NOS-II) ve endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS; NOS-III) olmak üzere üç farklı nitrik oksit sentaz (NOS) izoformu tanımlanmıştır. NOS türleri hem bulundukları hücre tipleri hem de NO'in miktarı, moleküler hedefleri ve işlevleri bakımından farklılıklar gösterirler. Nitrik oksit sentaz izoenzimlerinin hepsinin ortak ürünü NO'dur (7).

Endotelyal nitrik oksit sentaz izoenzimi NOS –III olarakta bilinmekte olup 134 kD'luk iki benzer monomerden oluşan bir dimerdir. Hücre içinde golgi cisimciği, plazma membranı ve en çok da plazmalemmal kaveolada bulunduğu tespit edilmiştir. Kaveolada kaveolin adlı kaplayıcı proteinle sarılı olan eNOS inaktif haldedir. Hücre içi serbest kalsiyum seviyelerinin artması kalsiyum/kalmodülin kompleksinin oluşumuna yol açar ve bu kompleks, kaveolinle yer değiştirerek, NOS enzimindeki kalmodülin bölgesine bağlanarak enzimi aktifleştirir ve serbest kalsiyum düzeyi düşene kadar aktif kalır (69).

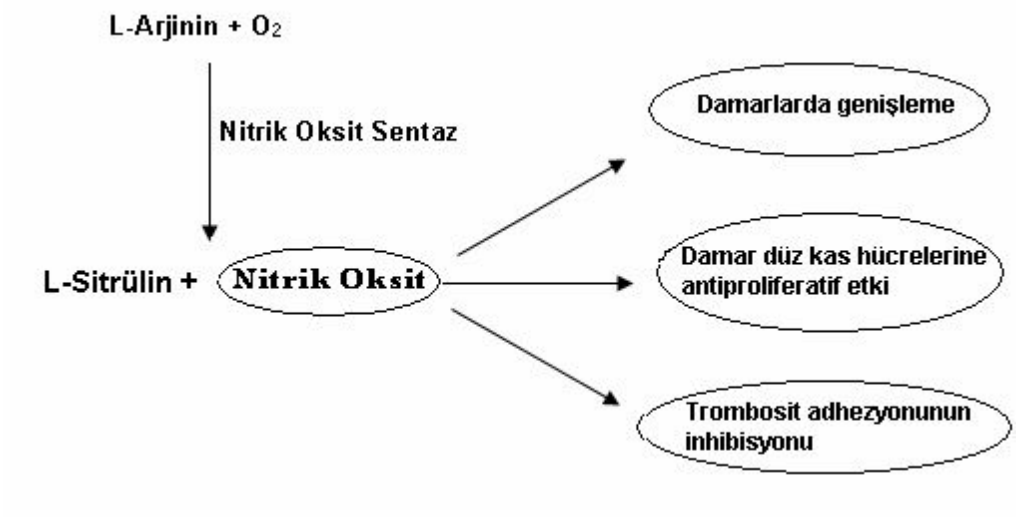
Nitrik oksit sentaz izoenzimlerinin hepsinin ortak ürünü NO'dur. Bulundukları yerler ve üstlendikleri roller farklıdır. Endotelyal NOS, endotelde düşük miktarlarda üretilir ve damar tonusunu ayarlar. Nöronal NOS, periferik ve santral sinir sistem nöronlarında düşük miktarlarda üretilip sinaptik şekillenme ve sinirsel iletimi düzenler. Periferik sinir sisteminde nörotransmitter gibi davranarak gastrointestinal sistem, ürogenital sistem ve solunum sisteminde nNOS içeren nonadrenerjik nonkolinerjik sinirler yoluyla düz kas gevşemesini düzenler. Büyük serebral damarları innerve eden vazodilatör sinirlerde de bulunur. İskelet kasında, kalp ve retinadaki katekolaminlerin salgılanmasını düzenleyen sinir terminallerinde de bulunur (70). İndüklenebilir NOS yüksek miktarlarda üretilerek enflamatuvar olaylarda rol alır ve hücre aracılı immün cevapta etkilidir (71).

Dolaşımdaki NO'nun asıl kaynağı ise eNOS izoenzimidir. Nitrik oksit sentezi damarlarda başlıca "shear stres" olarak adlandırılan kalbin her sistolde kanı damarlara göndermesi sonucu damar endoteli yüzeyinde oluşturduğu mekanik etki ile olur. Endotel hücreleri bu mekanik etki ile şekil değişikliğine zorlanırken hücre iskeleti aracılığı ile hücre içine sinyallerin gönderilmesiyle Protein Kinaz G aktive olarak eNOS'u fosforile edip aktivasyonuna neden olur. Sonuçta, endotel hücresinden sürekli NO üretilir (72,73).

NİTRİK OKSİTİN KARDİYOVASKÜLER SİSTEME ETKİLERİ

Küçük miktarlarda yapılan NO hedef hücrede guanilat siklaz aktivitesini arttırır ve hedef hücrenin cinsine göre fizyolojik etkiler ortaya çıkar. Arteriyel sistemde belirli bir damar tonusunu sağlayan devamlı bir NO sentezinin olduğu bilinmektedir. Endotelyal disfonksiyonunda ilk görülen hadise, NO aracılığı ile olan endotel bağımlı vazodilatasyonun bozulmasıdır. NO üretimi veya aktivitesindeki bozukluk endotelyal disfonksiyonun ana mekanizması olduğu ve aterosklerozu tetiklediği öne sürülmektedir (5,74).

Membranları kolayca geçebilen NO'un guanilat siklaz enzimi aracılığı ile kardiovasküler etkileri şekil 4 'de özetlenmiştir (75).



Şekil 4.Nitrik oksitin damarlar üzerine etkileri (75)

Nitrik oksit; vasküler hücre adhezyon molekülü (VCAM-1), intraselüler hücre adhezyon molekülü (ICAM), monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) ve E-selektin gibi adhezyon moleküllerinin ekspresyonu düzenlemektedir (76). NO, trombositlerdeki P-selektin ekspresyonunu inhibe ederek fibrinojen bağlayan glikoprotein IIb-IIIa (Gp IIb-IIIa) reseptöründe kalsiyuma bağlı yapısal değişikliği baskılayarak trombosit adhezyonunu ve agregasyonu inhibe eder (77).

Nitrik oksitin antioksidan etkileri de vardır; vasküler oksidatif stres kardiyovasküler hastalıkların patogenezi açısından önemli bir faktördür. NO, serbest yağ asitleri, fosfotidilkolin ve LDL oksidasyonunu inhibe eder ve okside lipidlerin proaterojenik etkilerine engeller (78).

Hipertansiyon, HL, sigara içme ve DM gibi ateroskleroza zemin hazırlayan faktörlerin tümü, anormal endotel fonksiyonları ve biyoaktif NO seviyelerinde azalma ile birliktedir (66). Ayrıca NO, bunların dışında nörotransmitter, immunomodülatör ve yabancı maddelere karşı sitotoksik etkiler de göstermektedir (79).

İleri glikolizasyon ürünlerinin birikimi, doğrudan kollajen çapraz bağları oluşturarak; dolaylı olarak ise kollajen dönüşümünü artırarak ya da nitrik oksit salınımını azaltarak sol ventrikül diyastolik sertliğini artırmaktadır (80).

Nitrik oksit çift uçlu bir kılıç gibidir; farklı konsantrasyonlarda değişik etkilere sahiptir. Yüksek dozlarda toksik ve öldürücü bir moleküldür. NO üretimindeki azalmayla; aterosklerozun gelişmesine veya komplike olmasına neden olan olaylarda artış görülür (75) .

KALITIM VE GENETİK POLİMORFİZM

Bir organizmanın göz ve cilt rengi gibi gözlenebilir karakteristiklerine, organizmanın "fenotipi" denir. Fenotip, organizmanın her bir hücresinde üretilen proteinlerin tipleri ve miktar özelliklerini de kapsar. Bir organizmaya aktarılan gen topluluğuna ise "genotip" denir. Biri anneden diğeri babadan gelen ve bireyin bir gen çiftini oluşturan genlere "alel genler" denir. Genler kromozomlarda taşınır. Genlerde aynı karakteristik özelliği kodlayan fakat farklı kodlar taşıdığı için farklı özelliklerin ortaya çıkmasını sağlayan genlerden her biri "alel"dir. Örneğin göz rengini belirleyen genin ela rengi ortaya çıkaran versiyonu ile kahverengi rengi ortaya çıkaran versiyonundan her biri aleldir. Populasyondaki bireylerin genotiplerini tanımak için her bir genotipteki bireylerin sayısını bilmek gerekir. Örneğin otozomal bir gen lokusunda eğer iki allel varsa (A, a) populasyonda bu gen bakımından üç genotip bulunabilir: AA, Aa, aa. Bir genotipteki birey sayısının populasyondaki toplam birey sayısına oranı, "genotip frekansı"dır. Bir populasyondaki farklı genotip frekanslarının toplamı o populasyonun genotipik yapısını oluşturur (81,82).

Genetik polimorfizm bir populasyonda farklı allellere bağlı olarak, genetik olarak belirlenmiş iki veya daha çok alternatif fenotipin aynı anda görülmesi durumudur (83).

Polimorfizmlerin oluş şekli kadar genin hangi bölgesinde meydana geldiği de önemlidir. Promotor bölge, genin dışında bulunan ve kopyalanmanın başladığı kısa DNA dizisidir. Genelde promotör bölgedeki polimorfizmler mRNA kopyalanmasını etkileyerek enzim düzeyini değiştirme potansiyeline sahiptir. Ekzon bölgeleri protein yapımından sorumlu olan kodlanan kısımlardır. Buradaki polimorfizmler protein yapıyı etkileyerek enzim aktivitesini değiştirebilir. Ekzon bölgeleri, intronlar ile birbirinden ayrılırlar. İntronlar protein yapımı için bir şifre içermezler; kodlanmayan bölgelerdir. Genin çalışması, üretim kapasitesi ve fonksiyonlarının düzenlenmesinde görev alırlar. Bu yüzden intronlardaki polimorfizmlerin promotor veya ekzon bölgesi varyantlarına göre daha az işlevsel role sahip olduğu düşünülür (84).

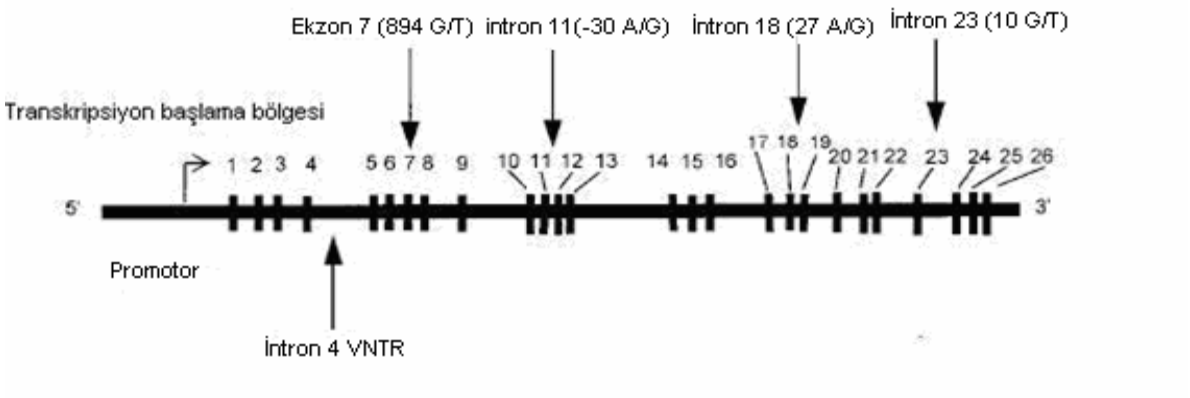
ENDOLTELYAL NİTRİK OKSİT SENTAZ GENİ ve ÖZELLİKLERİ

Endotelyal NOS geninin yapısı ve lokalizasyonu ilk olarak 1993'te Marsden ve arkadaşları tarafından tespit edilmiştir. eNOS geni; 7. kromozomun uzun kolunun 35. ve 36. loküsünde yerleşmiştir (Şekil 5) . eNOS geni, 1203 aminoasitten oluşan eNOS enziminin transkripsiyonundan ve sentezinden sorumludur. (85,86).



Şekil 5.7. kromozomda eNOS geninin yerleşimi (85)

Nakayama ve arkadaşları tarafından tanımlanan T-786 C polimorfizmi eNOS geninin promotör bölgesindeki 786 numaralı timin (T) bazı ile sitozin (C) bazının yer değiştirdiği nokta mutasyonudur (87). Promotör bölgedeki polimorfizmler mRNA kopyalanmasını etkileyerek enzim düzeyini değiştirme potansiyeline sahiptir (84). Endotelyal nitrik oksit sentaz gen polimorfik varyantlarıda enzimin ekspresyonunun ve fonksiyonel aktivitesini etkileyerek NO yararlanımını azaltabilmektedir (88). 1998 yılında Yoshimura ve arkadaşları tarafından tanımlanan Glu 298-Asp (G894T) ekzon polimorfizmi, eNOS geninin ekzon 7'sinde, 894. pozisyondaki guanin (G) bazının, timin (T) bazı ile yer değiştirmesi sonucu meydana gelir. Bu durumda normalde eNOS geninde 298. pozisyonunda ifade edilen glutamat (Glu) amino asiti yerine, aspartat (Asp) amino asiti yerleşmiş olur (11). eNOS G894T polimorfizminin eNOS enziminin primer yapısında değişikliğe neden olabildiği ve eNOS geninin bu polimorfizmi eNOS geninin diğer komponentler ile etkileşimini ve enzimatik stabilitesinide değiştirebildiği bildirilmiştir (89,90). SVH, KAH, MI gibi ateroskleroz sonucu gelişen hastalıklar ile alzheimer, migren ve HT gibi birçok hastalıkta Glu 298-Asp veya T-786 C polimorfizmlerinin ilişkisi olduğunu düşündüren çalışmalar yapılmıştır (8-11). Şekil 6'da eNOS geninde çalışılan bazı polimorfizm bölgeleri gösterilmiştir.



Şekil 6. eNOS geni promotör, intron ve ekzon bölgelerinin görüntüsü ve bazı polimorfizm bölgeleri (84)

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamıza 01/06/2013 ile 31/06/2014 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Kardiyoloji Anabilim dalı poliklinik, servis ve yoğun bakım ünitelerine başvuran; KAH veya AKS (USAP, ST elevasyonlu miyokart infarktüsü, ST elevasyonlu olmayan miyokart infarktüsü) tanıları ile koroner anjiyografi yapılmaya karar verilmiş 200 gönüllü hasta alındı. Bu çalışmanın yapılabilmesi için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulundan gerekli izin ve onay alındı (Ek-1).

DAHİL EDİLME KRİTERLERİ

1.Koroner arter hastalığı şüphesi veya tanısı ile koroner anjiyografi yapılacak olan hastalar.

2. Yazılı onamı imzalayıp çalışmayı kabul etmiş olmak (Ek-2).

DIŞLAMA KRİTERLERİ

1.Malignite tanısı alanlar

2.Araştırmayı reddetmek.

OLGU KAYITLARI

Olgulara ait dosya kayıtları, hastane veri tabanı kullanılarak, olguların yaş, cinsiyet, HT, DM, sigara kullanımı, lipit düzeyleri ve koroner anjiyografi rapor kayıtları tarandı.

Olguların risk faktörleri analizi amaçlı kan numuneleri, periferik damar yolundan 8-12 saatlik açlık sonrası alındı. Numuneler Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Biyokimya

Laboratuvarı bünyesinde bulunan Siemens Advia 1800 oto analizör cihazı ve cihaza ait aynı marka kitlerle analiz edildi.

Hiperlipidemi; herhangi bir zamanda total kolesterol değerinin bir kez 200 mg/dl üzerinde olanlar veya açlık LDL düzeyi 130 mg/dl'nin üzerinde olması veya açlık TG düzeyinin 150 mg/dl'nin üzerinde saptanması veya hastanın HL açısından tedavi alıyor olması olarak kabul edildi.

Diyabetes mellitus; açlık kan şekeri düzeyinin 125 mg/dl üzerinde olması veya DM nedeniyle tedavi alıyor olması olarak değerlendirildi.

Hipertansiyon; en az iki ayrı vizitte sistolik kan basıncı ≥140 mmHg diyastolik kan basıncı ≥90 mmHg ya da herhangi bir antihipertansif ilaç kullanım öyküsü olması olarak değerlendirildi.

Sigara öyküsü; halen günde ≥1 adet sigara kullanıyor olmak veya 1 yıldan az bir süre içinde bırakmış olmak olarak değerlendirildi.

Alkol kullanımı; erkeklerde günlük 2 kadeh (20 gr/gün alkol) ve gebe olmayan kadınlarda günlük 1 kadeh (10 gr/gün alkol) kullanımından fazlası olarak değerlendirildi.

Aile hikayesi; birinci derece erkek akrabalarda <55 yaş, birinci derece bayan akrabalarda <65 yaş koroner arter hastalığı varlığı olarak değerlendirildi.

Vücut kitle indeksi (VKİ); kilogram (kg) cinsinden vücut ağırlığının, metre cinsinden boy uzunluğunun karesine bölünmesiyle (kilo/boy²) elde edildi.

Kritik (anlamlı) KAH tanısı için KAG işlemi Philips İntegris H 3000 (Eindhoven, The Netherlands) ve Siemens Atris Zee Ceiling model anjiyografi cihazları kullanıldı.

Çalışmamızda LAD, Cx ve RCA için %50 üzeri, LMCA için %50 ve üzeri darlıklar kritik olarak kabul edildi (60). Koroner hastalığı ciddiyetine göre tek damar, iki damar, üç damar hastalığı ve LMCA lezyonuna göre aşağıdaki gibi sınıflandırdık;

1. Tek damar hastalığı; RCA, Cx ve LAD arterin herhangi birinde %50 üzeri darlık
2. İki damar hastalığı; RCA, Cx ve LAD arterin herhangi ikisinde %50 üzeri darlık
3. Üç damar hastalığı; RCA, Cx ve LAD arterin üçünde %50 üzeri darlık. İzole LMCA anlamlı darlık; çok damar hastalığı sınıfında değerlendirildi (60).

Kontrol grubunda ise hastalar hiç darlık izlenmeyenler normal koroner arter; LMCA için %50 altında darlık, LAD, Cx, RCA için %50 ve altında darlık izlenenler kritik olmayan (anlamsız) koroner arter olarak ayrıldı.

Kontrol ve KAH gruplarının DNA izolasyonu için alınan kan örnekleri, ayrıca damar yolu açılmadan; KAG amaçlı yerleştirilen sheatten alındı. Açlık veya tokluk gözetilmedi. Kan

örnekleri 10 ml' lik vakumlu, steril, EDTA içeren tüplere alındı. Örnekler alındıkları andan itibaren ilk 3-5 gün DNA' ları izole edilene kadar +4°C'de saklandı.

MOLEKÜLER ANALİZ

Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) genine ait G894T, G≥T (Glu298-Asp) ve T-786C ait polimorfizmleri tek nükleotid polimorfizmleridir.

G894T, gen polimorfizminde üç genotip görülmektedir. Bu genotipler; GG homozigot, GT heterozigot ve TT homozigot genotipleridir. Bu çalışmada kullandığımız PZR-RFLP yönteminde; (Polymerase Chain Reaction- Restriction Fragment Length Polymorphism) GG homozigot genotipinde 137 ve 320 baz çifti (bç) olarak iki fragment, GT heterozigot genotipinde 457 bç, 137 bç ve 320 bç olmak üzere üç fragment ve TT homozigot genotipinde de 457 bç olmak üzere tek fragmentten oluşmaktadır.

T786C Gen Polimorfizmi ise TT, TC, CC olmak üzere üç genotiptir. Çalışmamızda eNOS gen T786C polimorfik değişimleri, AS-PZR (Allel Spesifik- PZR) ile belirlenmiştir. PZR sonucu oluşan ürünlerde; C alleli 176 bç, T alleli 250 bç'lik ürün oluşturmuştur.

Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Agaroz (BioMax), Borik Asit (Sigma), EDTA (Sigma), Tris (Bio Basic), Etanol %100 (Riedel), EtidyumBromid (EtBr) (Sigma), 100 bç DNA marker (Fermantas), dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Fermantas), Primerler (Fermantas), Taq DNA polimeraz Seti (ThermoScientific), MboIRestriksiyon Enzimi (Glu298Asp polimorfizmi için) (ThermoScientific).

Çalışmada Kullanılan Cihazlar

AgarozElektroforez Tankı (Bio-Metra), Güç Kaynağı (Bio-Metra), Derin Dondurucu (Arçelik), Manyetik Karıştırıcı (Wisestir), Otoklav (Nüve), Santrifüj (BeckmanCoulter), Terazi (AND), ThermalCycler (Techne), Vortex (VELP), ETÜV (Heraeus), Termo-Shaker (Boeco), Mikrodalga Fırın (Vestel).

Çalışmada Kullanılan Çözeltiler

10xTris Borat Elektroforez (TBE) Çözeltisi (1 litre) pH: 7.4, 60.5 gr Tris, 3.72 gr EDTA30.85 gr Borik Asit, 1lt distile su içerisinde çözdürüldü.%2'lik Agaroz Jel, 0.6 gr

Agaroz, 30 ml 0.5xTBE çözeltisi içinde kaynatıldı ve kaynayıp biraz beklendikten sonra EtBr eklendi.

YÖNTEMLER

DNA İzolasyon Yöntemi

Alınan kan örneklerinden DNA (Invitrogen, Germany) saflaştırma kiti kullanılarak DNA'lar aşağıdaki adımlar uygulanarak izole edildi (91).

1. 200 µl tam kan 2 ml'lik ependorfların içerisine konuldu. Üzerine 20 µl proteinaz K çözeltisi ve 400 µl Liziz çözeltisi eklendi. Çözeltiler ilave edildikten sonra homojen bir karışım elde etmek için kısa bir süre vorteks edildi.

2. Hücre zarlarını tamamen parçalanana kadar karışımlar 56 C'de 10 dakika (dk) inkübe edildi.

3. 200 µl etanol (% 96-100) eklendi ve kısa bir süre vorteks edildi.

4. Kolona, hazırlanmış olan karışım ilave edildikten sonra 1 dk 6000xg'de santrifüj edildi. Atığı içeren toplama tüpü atıldı ve yeni toplama tüpün içerisine kolon yerleştirdi.

5. 500 µl WashBuffer I (etanol ilave edilmiş) eklendi ve 1 dk 8000xg'de santrifüj edildi.

6. Toplama tüpün içerisindeki atık atıldı ve kolon içerisine tekrar yerleştirildi.

7. 500 µl WashBuffer II (etanol ilave edilmiş) eklendi ve 3 dk 12000xg'de santrifüj edildikten sonra kolon 2 ml'lik ependorf içerisine yerleştirildi.

8. 100 µl ElutionBuffer ilave edildi ve oda sıcaklığında 2 dk beklendi daha sonra 1 dk 8000xg'de santrifüj edildi.

9. Son olarak, kolon atıldı ve saf DNA -20 C'de saklandı.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Yöntemi

Glu298Asp (Rs17999983) için PZR karışımı, aşağıdaki ürünler kullanılarak 200 µl'lik PZR tüpleri içerisinde hazırlandı (91).

1.5 µl 3 mM MgCl2, 1.5 µl 1x PZR Tampon (Buffer), 0.6 µl 0.2mMdNTP, 0.3 µl 1 nM T174M Primer F, 0.3 µl nM T174M Primer R, 0.15 µl l.25 ünite Taq DNA Polimeraz, 17.65 µl d, 3 µl izole edilmiş DNA

Toplam hacim: 25 µl

G ≥T (Glu298-Asp) için PZR Döngüsü

G ≥T (Glu298Asp)'nin bir döngüsü 94 C'de 1dk denatürleme, 58 C'de 1dk bağlanma, 72 C'de1dk uzamadan oluşan toplam 35 döngülük bir PZR programı uygulandı (91).

Başlangıç: 94 C 5 dk,

94 C 1 dk,
58 C 1 dk } 35 döngü
72 C 1 dk

Sonlanma: 72 C 10 dk

G ≥T (Glu298-Asp) için Primer Dizileri:

Forward: 5'- AAG GCA GGA GAC AGTGGA TGG A-3'

Revers: 5'- CCC AGT CAA TCC CTTTGG TGC TCA-3' (91).

G ≥T (Glu298Asp) için Restriksiyon Enzim Kesim Yöntemi (RFLP)

G≥T (Glu298Asp) RFLP (ThermoScientific, Lithuania) için aşağıdaki ürünler kullanılarak 200 µl'lik kesim tüpleri içerisinde hazırlandı (91).

1 µl 10x Fast Digest GreenBuffer 0.5 µl 1x Fast Digestrestriksiyon enzimi (G≥T (Glu298Asp) için MspI) 8 µl, 5 µl (~0.2 µg) PZR reaksiyon ürünü. Karışım hazırlandıktan sonra 37 C'de 1 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin sonunda ürünler EtBr ile hazırlanan %2'lik agaroz jelde yürütülerek UV ışık altında oluşan bantlar gözlendi ve genotipine karar verildi.

Allelik polimorfizmler, restriksiyon bölgesinin her iki allelde de bulunmaması (normal); Glu/Glu(GG), restriksiyon bölgesinin her iki allelde de bulunması (mutant); Asp/Asp (TT) ve restriksiyon bölgesinin sadece bir allelde bulunması (heterezigot); Glu/Asp (GT) şeklinde açıklanabilir.

T-786C için PZR Koşulu

T-786C (Rs2070744) için PZR karışımı, aşağıdaki ürünler kullanılarak 200 µl'lik PZR tüpleri içerisinde hazırlandı (92).

1.5 µl 3 mM MgCl2, 1.5 µl 1x PZR Tampon (Buffer), 0.6 µl 0.2mMdNTP, 0.3 µl 1 nMPrimer F, 0.3 µl 1 nMPrimer R, 0.15 µl 1.25 ünite Taq DNA Polimeraz17.65 µl, 3 µl izole edilmiş DNA

Toplam Hacim: 25 µl

T-786C için PZR Döngüsü (AS-PZR)

T-786Cninbir döngüsü için başlangıç 94 C de 5 dakika (Full DNA denatürasyonu) 94 C' de 1 dakika denatürleme, 56 C'de 1 dakika bağlanma ve 72 C'de 1 dakika uzamadan oluşan toplam 35 döngülük bir PZR programıuygulandı (92).

Başlangıç: 94 C 5 dk,

94 C 1 dk,
56 C 1 dk } 35 döngü,
72 C 1 dk

Sonlanma: 72 C 10 dk

T-786C için Primer Dizileri

Forward: 5'- *CACCTGCATTCTGGGAACTGTA 3*_-3'

Revers :5'- *GCCGCAGTAGCAGAGAGAC- 3*

GA:5'-GGCAGAGGCGGTAGACCC-3'(92).

Oluşan PZR ürünleri, EtBr ile hazırlanan %2'lik agaroz jelde yürütülerek UV ışık altında oluşan bantlar gözlendi ve genotipine karar verildi. PZR sonucu oluşan ürünlerde; homozigot normal CC genotipi için 176 bç'lik tek bant, homozigot mutant TT genotipi için 250 bç'lik ürün oluşturmuştur. TC heterozigot genotip için 176 ve 250 bç lik iki PZR ürünü oluşmuştur.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmanın istatistiksel analizi SPSS sürüm 20.0 programı kullanılarak (Lisans No:10240642) yapıldı. Sürekli değişkenler, aritmetik ortalama ± standart sapma; kategorik değişkenler yüzde olarak ifade edildi. Sürekli değişkenlerin ikili karşılaştırılmasında normalite testi olarak Kolmogorov-smirov ve Shapiro-Wilk testi kullanıldı; normal dağılıma uyanlara Student t-testi; normal dağılma uymayanlara non-parametrik yöntem olan Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ise Ki-kare ($\chi 2$) testi kullanıldı. İkiden fazla grup ortalamaları Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ile normal dağılım göstermeyen ikiden fazla grup ortamaları ise Kruskal-Wallis testiyle karşılaştırıldı. Çalışma grupları için gözlenen genotip frekanslarının Hardy Weinberg dağılımlarına uygunlukları HW calculator (court lab) software ile analiz edildi. İlişki gücü olasılık oranları (OR) ve %95 güven aralıkları hesaplanarak allelik genetik modeli, dominant model ve resesif model oluşturuldu. Koroner arter hastalığı için bağımsız risk faktörlerinin belirlenmesinde çok

değişkenli Lojistik Regresyon Analizi uygulandı. ‘p’ değerinin 0.05’in altında bulunması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya Trakya Üniversitesi Kardiyoloji Anabilimdalı servis ve yoğun bakım ünitelerinde yatışı olan ve koroner anjiyografisi yapılan 200 olgu dahil edildi.

Kontrol Grubu

Kontrol grubuna, KAH ön tanısı ile koroner anjiyografisi yapılan LMCA,LAD, RCA veya Cx damarlarında hiç darlık izlenmeyen, yazılı onam veren, 39 kadın, 27 erkek gönüllü alındı.

Koroner Arter Hastalığı Grubu

Koroner arter hastalığı ön tanısı ile koroner anjiyografisi yapılan epikardiyal damarlarının en az birinde LAD, Cx ve RCA için %50 üzeri, LMCA için %50 ve üzeri darlığı olan, yazılı onam veren 90 erkek, 44 kadın gönüllü alındı.

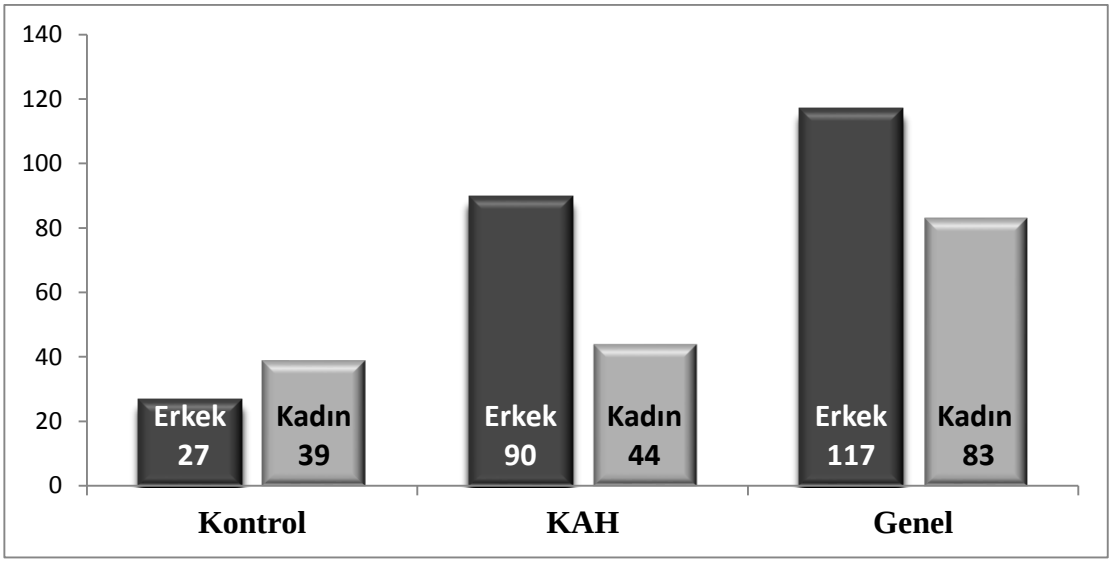
Demografik ve Laboratuvar Verileri

Çalışma populasyonun genel ve gruplara göre cinsiyet dağılımı Şekil 7'de gösterilmiştir.

Kontrol grubunun yaş ortalaması 52.9±9.8 yıl, KAH olguların yaş ortalaması 56.7±8.2 yıl ile yaş arttıkça KAH olma riskinin arttığı görüldü (p=0.015).

Vücut kitle indeksi ölçümlerinde (p=0.186) ve göbek çevresi ölçümlerinde (p=0.215) anlamlı fark izlenmedi.Alkol kullanımının (p=0.034) KAH için risk faktörü olduğu görüldü. Alkol kullananlarda riskin 3.68 kat arttığı tespit edildi. Aile hikayesi mevcudiyetinin KAH

gelişim riskini anlamlı olarak arttırdığı (p=0.032) bulundu. Aile hikayesi olanlarda KAH görülme riski 2.41 kat fazla hesaplandı. Sigara kullanımı (p=0.065), HT geçmişi (p=0.294) ve DM geçmişi (p=0.187) çalışma grubumuzda KAH risk faktörü olarak istatistik anlam değeri taşımadı (Tablo 5).



Şekil 7. Cinsiyete göre dağılımı

Tablo 5. Kontrol ve koroner arter hastalığı grubunun demografik verileri

		Kontrol Grubu n=66	KAH Grubu n=134	Relatif Risk (Odd's Oranı)	Güven Aralığı (%95)	p değeri
Yaş		52.9±9.8	56.7±8.2			0.015*
VKI[#]		27.6±4.5	28.5±4.4			0.186
Göbek çevresi		97.9±12	100.2±13.7			0.215
Cinsiyet n(%)	**Kadın**	39(%59.1)	44(%32.8)	1(referans)		<0.001*
	Erkek	27(%40.9)	90(%67.2)	2.95	1.60-5.43	
Diyabet n(%)	**Yok**	51(%77.3)	90(%67.2)	1(referans)		0.187
	Var	15(%22.7)	44(%32.8)	1.66	0.84-3.27	
Hipertansiyon n(%)	**Yok**	37(%56.1)	64(%47.8)	1(referans)		0.294
	Var	29(%43.9)	70(%52.2)	1.39	0.77-2.52	
Sigara kullanımı n(%)	**Yok**	47(%71.2)	77(%57.5)	1(referans)		0.065
	Var	19(%28.8)	57(42.5)	1.81	0.97-3.45	
Aile Öyküsü n(%)	**Yok**	57(%86.4)	97(%72.4)	1(referans)		0.032*
	Var	9(%13.6)	37(%37.6)	2.41	1.08-5.36	
Alkol kullanımı n(%)	**Yok**	63(%95.5)	114(%85.1)	1(referans)		0.034*
	Var	3(%4.5)	20(%14.9)	3.68	1.05-12.86	

[#]**VKI:** Vücut kitle indeksi (kg/m^2) ; ***:** İstatiksel anlamlılık (p=<0.05)
Sürekli değişkenler ortalama±standart sapma, kategorik veriler n (%) olarak verilmiştir.
n: Örnek sayısı, **p:** Gruplar arası anlamlılık derecesi, **KAH:** Koroner arter hastalığı.

Laboratuvar verileri değerlendirildiğinde iki grup arasında Total kolesterol (p=0.317), LDL-K (p=0.181) ölçümleri arasında istatistikselfark bulunmadı. HDL-K değerlerinde KAH grubunda 42.1±10.9 mg/dl, kontrol grubunda 52.8±13.1 mg/dl ölçümleri istatiksel anlamlı olarak farklıydı. HDL-K yüksekliğinin KAH için koruyucu olduğu tespit edildi. TG ölçümleri değerlendirildiğinde kontrol grubunda 137.3±85.9 mg/dl, KAH grubunda 181±113.9 mg/dl ortalama değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunan (p=<0.001) TG yüksekliği görüldü (Tablo 6).

Çalışmaya alınan kişiler demografik ve laboratuvar verileri ile değerlendirildiğinde yaş, erkek cinsiyet, sigara kullanımı, aile öyküsü, HDL-K düşüklüğü, TG yüksekliği ve alkol kullanımının KAH grubunda istatistiksel fark taşıdığı gözlendi (Tablo 5,6).

Tablo 6. Kontrol ve KAH grubunun laboratuvar verileri

	Kontrol Grubu n=66	**KAH n=134**	**p değeri**
Total kolesterol (mg/dl)	185.2±37.1	191.2±40.6	0.317
HDL-K (mg/dl)	52.8±13.1	42.1±10.9	<0.001*
LDL-K (mg/dl)	117.5±33.5	124.7±40.6	0.181
Trigliserid (mg/dl)	137.3±85.9	181±113.9	<0.001*

Sürekli değişkenler ortalama±standart sapma, kategorik veriler n (%) olarak verilmiştir.
n:Örnek sayısı, **p:** Gruplar arası anlamlılık derecesi; ***:** İstatiksel anlamlılık (p=<0.05)
HDL-K:Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol, **LDL-K:**Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol, **KAH:** Koroner arter hastalığı.

Hardy-Weinberg prensibine göre gen frekansını etkileyen faktörler olmazsa populasyonun gen havuzunda alel, genotip ve frekanslar nesiller boyu sabit kalır. Çalışmamızda değerlendirilen polimorfizmler için Hardy-Weinberg denge analizinde p değerleri 0.05 küçük olması nedeniyle H1 hipotezi (populasyonun dengede olmadığı) kabul edildi. Kontrol ve KAH her iki gruptaki olgularımızın T-786 C ve Glu 298-Asp allelerinin dağılımlarının Hardy-Weinberg dengesine uygun olmadıkları gözlendi (Tablo 7).

Tablo 7. Çalışma gruplarında Hardy-Weinberg dengesi

	Genotipler	Gözlenen değer	Beklenen değer	Ki kare	p değeri*
T-786 C					
Kontrol grubu	**CC**	20	16	3.8	0.049
	TC	25	33		
	TT	21	17		
KAH grubu	**CC**	48	36	17.1	<0.001
	TC	43	67		
	TT	43	31		
Glu 298-Asp					
Kontrol grubu	**GG**	32	20.7	31.6	<0.001
	GT	10	32.5		
	TT	24	12.7		
KAH grubu	**GG**	72	48.4	72.4	<0.001
	GT	17	64.3		
	TT	45	21.4		

*"H0 hipotezi gözlenen genotipik varyasyonların beklenen genotipik varyasyonlarla uyumlu bir dağılım göstermektedir; H1 hipotezi gözlenen genetik varyasyonların beklenen genotipik varyasyonlarla uyumlu bir dağılım göstermemektedir." olarak kabul edildiği için p değeri 0.05'ten büyük olan olasılıklar anlamlı olarak kabul edilmiştir.
KAH: Koroner arter hastalığı.

Populasyonumuza akut koroner sendrom tanısıyla katılan kişilerin sayı ve dağılımları Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8. Akut Koroner Sendromlu kişilerin gruplara dağılımı

			Kontrol Grubu n=66	KAH Grubu n=134
AKS	**Evet**	**n=59**	4 (%2)	55(%27.5)
	Hayır	**n=141**	62 (%31)	79(%39.5)

n: Örnek sayısı, **AKS:** Akut koroner sendrom, **KAH:** Koroner arter hastalığı.

Koroner Anjiyografi Verileri

Epikardiyal damarlarında hiç darlık olmayan 66 kişiyi normal koroner arter olarak tanımlayarak Kontrol grubuna dahil ettik. KAH grubunda %50 ve üzeri olanları kritik olarak, %50 altında lezyonu olanları non-kritik olarak tanımladık. Kritik koroner arter lezyonu olanları damar tutulum sayılarına göre sınıfladık. Hastalarımızın kritik darlığı olan damar tutulum sayılarına göre dağılımları Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo9.Kritik darlığı olan kişilerde tek ve çok damar hastalığı dağılımı

Anlamlı lezyonu olan koroner damar		n=100	%
Tek damar		50	%50
Çok damar	**İki damar**	27	%27
	Üç damar	23	%23

n: Kişi sayısı.

eNOS geni T-786 C polimorfizmi

T 786-C polimorfizmi için gruplarımız arası ilişki analizi Tablo 10'da verilmiştir. Kontrol grubunda CC genotipi 20 (%30.3) kişide, TC genotipi 25 (%37.9) kişide, TT genotipi 21 (%31.8) kişide izlendi. KAH grubunda CC genotipi 48 (%35.8) hastada, TC genotipi 43 (%32.1) hastada, TT genotipi 43 (%32.1) hastada izlendi. Gruplar genotip dağılımlarına göre karşılaştırıldığında TT (p=0.660), TC (p=0.73) ve CC (p=0.634) genotipleri yönünden aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Dominant model karşılaştırmasında CC+TC genotipine sahip olanlar ile TT genotipine sahip olanlar arasında anlamlı fark izlenmedi (p=0.439). Resesif model karşılaştırmasındada TT+TC genotipine sahip olanlar ile CC genotipine sahip olanlar arasında anlamlı fark (p=0.622) izlenmedi. Allel frekansları açısından incelendiğinde Kontrol grubunda 65 (%49.2) T alleli, 67 (%50.8) C alleli; KAH grubunda 139 (%51.9) T alleli, 129 (%48.1) C alleli tespit edildi. Gruplar arasında allel sıklığı açısından istatistiksel anlam (p=0.622) tespit edilmedi.

Tablo 10. Kontrol ve koroner arter hastalığı gruplarında T-786 C genotip polimorfizm ilişkisi

T-786 C Genotip	Kontrol Grubu n=66	KAH n=134	Relatif Risk (Odd's Oranı)	Güven Aralığı (%95)	p değeri
CC	20(%30.3)	48(%35.8)	0.84	0.41-1.72	0.634
TC	25(%37.9)	43(%32.1)	1.17	0.56-2.4	0.673
TT	21(31.8)	43(%32.1)	1(referans)		0.660
Dominant Model					
CC+TC	45(%68.2)	91(%67.9)	0.98	0.52-1.85	0.969
TT	21(%31.8)	43(%32.1)	1(referans)		
Resesif Model					
TC+TT	46(%69.7)	86(%64.2)	1.28	0.68-2.41	0.439
CC	20(%30.3)	48(%35.8)	1(referans)		
Alel sıklığı					
C	65(%49.2)	139(%51.9)	1.11	0.73-1.68	0.622
T	67(%50.8)	129(%48.1)	1(referans)		

n: Hasta sayısı, **p:**Gruplar arası anlamlılık derecesi, **KAH:** Koroner arter hastalığı.

T-786 C polimorfizmi dominant modelinde demografik verileri için incelediğimizde geleneksel aterosklerotik risk faktörleri ile T-786 C polimorfizmi arasında istatiksel ilişki saptamadık (Tablo 11).

Tablo 11. T-786C dominant modele göre demografik veri karşılaştırması

		CC+TC n=136	TT n=64	p değeri
Yaş		55.1±8.3	56.2±10	0.375
VKI[#]		28.2±4.3	28.1±4.8	0.804
Göbek çevresi		99.9±13.7	98.5±12.2	0.496
Cinsiyet n(%)	**Kadın**	60(%44.1)	23(%36)	0,273
	Erkek	76(%55.9)	41(%64)	
Diyabet n(%)	**Yok**	97(%71)	44(%68.7)	0.710
	Var	39(%29)	20(%31.3)	
Hipertansiyon n(%)	**Yok**	72(%68)	29(%45)	0.314
	Var	34(%32)	35(%55)	
Sigara kullanımı n(%)	**Yok**	85(%62.5)	39 (%60.9)	0.832
	Var	51(%37.5)	25(%29.1)	
Aile Öyküsü n(%)	**Yok**	103(%75.7)	51(%79.6)	0.536
	Var	33(%24.3)	13(%21.4)	
Alkol kullanımı N (%)	**Yok**	119(%87.5)	58(%90.6)	0.518
	var	17(%12.5)	6(%9.4)	

[#]**VKI:** Vücut kitle indeksi (kg/m^2) , **n:**Örnek sayısı, **p:** Gruplar arası anlamlılık derecesi.
Sürekli değişkenler ortalama±standart sapma, kategorik veriler n (%) olarak verilmiştir.

T-786 C polimorfizmi dominant modelinde laboratuvar verileri değerlendirildiğinde geleneksel aterosklerotik risk faktörlerinden lipid profilleri ile T-786 C polimorfizmi arasında Tablo 12'de gösterildiği gibi istatiksel ilişki saptamadık.

Tablo 12. T-786C dominant modele göre laboratuvar veri karşılaştırması

	CC+TC n=136	TT n=64	p değeri
Total kolesterol (mg/dl)	188.5±42.7	190.8±43.5	0.716
HDL-K (mg/dl)	45.6±12.8	45.7±12.3	0.536
LDL-K (mg/dl)	121±38.4	125.1±38.8	0.481
Trigliserid (mg/dl)	169.4±113	160.7±94.5	0.861

Sürekli değişkenler ortalama±standart sapma, kategorik veriler n (%) olarak verilmiştir.
n: Örnek sayısı, **p:** Gruplar arası anlamlılık derecesi.
HDL-K:Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol, **LDL-K:**Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol.

T-786 C polimorfizmi genotipleri açısından kritik damar hastalık tutulumlarına göre dağılımı Tablo 13'de gösterilmiştir. Genotip dağılımları, dominant model ve resesif model ile kritik damar tutulumu arasında ilişki analizinde istatiksel anlam bulunmadı (p=0.137; p=0.205; p=0.313)

Tablo 13. T-786C polimorfizm genotiplerinin damar hastalığına göre dağılımı

T-786 C	Tek damar n=50	Çok damar n=50	p
CC	20(%40)	13(%26)	0.137
TC	16(%32)	17(%34)	
TT	14(%28)	20(%40)	
Dominant Model			
CC+TC	36(%36)	30(%30)	0.205
TT	14(%14)	20(%20)	
Resesif Model			
TT+TC	24(%24)	19(%19)	0.313
CC	26(%26)	31(%31)	

n:Hasta sayısı, **p:** Gruplar arası anlamlılık derecesi.

eNOS geni Glu 298-Asp polimorfizmi

Glu 298-Asp polimorfizmi gruplarımız arası analiz Tablo 14'te verilmiştir. Kontrol grubunda GG genotipi 32 (%48.5) kişide, GT genotipi 10 (%15.2) kişide, TT genotipi 24 (%36.4) kişide izlendi. Ateroskleroz grubunda GG genotipi 72 (%53.7) hastada, GT genotipi 17 (%12.7) hastada, TT genotipi 45 (%33.6) hastada izlendi. Gruplar genotip dağılımlarına göre karşılaştırıldığında GG (p=0.836), TC (p=0.581) ve CC (p=0.767) genotipleri yönünden aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Dominant model karşılaştırmasında GG+GT genotipine sahip olanlar ile TT genotipine sahip olanlar arasında anlamlı fark izlenmedi (p:0.697). Resesif model karşılaştırmasında ise TT+GT genotipine sahip olanlar ile GG genotipine sahip olanlar arasında istatistiksel anlamlı fark (p=0.485) izlenmedi. Allel frekansları açısından incelendiğinde Kontrol grubunda 74 (%56.1) G alleli, 58 (%43.9) T alleli; KAH grubunda 161 (%60.1) G alleli, 107 (%39.9) T alleli tespit edildi. Gruplar arasında allel sıklığı açısından istatistiksel anlamlı fark tespit edilmedi (p=0.443).

Glu 298-Asp polimorfizmi dominant modelinde demografik verileri için incelediğimizde geleneksel aterosklerotik risk faktörleri ile Glu 298-Asp polimorfizmi arasında istatiksel ilişki saptamadık (Tablo 16).

Glu 298-Asp polimorfizmi dominant modelinde laboratuvar verileri değerlendirildiğinde geleneksel aterosklerotik risk faktörlerinden lipid profilleri ile Glu 298-Asp polimorfizmi arasında Tablo 15'de gösterildiği gibi istatiksel ilişki saptamadık.

Tablo 14. Kontrol ve koroner arter hastalığı gruplarında Glu 298-Asp genotip polimorfizm ilişkisi

Glu 298-Asp Genotip	Kontrol Grubu n (%)	KAH n (%)	Relatif Risk (Odd's Oranı)	Güven Aralığı (%95)	p değeri
GG	32(%48.5)	72(%53.7)	0.90	0.36-2.28	0.836
GT	10(%15.2)	17(%12.7)	1.2	0.62-2.29	0.581
TT	24(%36.4)	45(%33.6)	1(referans)	-----	0.767
Dominant Model					
GG+GT	42(%63.6)	89(%66.4)	0.88	0.47-1.63	0.697
TT	24(%36.4)	45(%33.6)	1(referans)		
Resesif Model					
TT+GT	34(%51.5)	62(%46.3)	0.81	0.44-1.46	0.485
GG	32(%48.5)	72(%53.7)	1(referans)		
Alel sıklığı					
G	74(%56.1)	161(%60.1)	1.17	0.77-1.79	0.443
T	58(%43.9)	107(%39.9)	1(referans)		

n:Hasta sayısı, **p:**Gruplar arası anlamlılık derecesi, **KAH:** Koroner arter hastalığı.

Tablo 15. Glu 298 Asp dominant modele göre laboratuvar veri karşılaştırması

	GG+GT n=131	TT n=69	p değeri
Total kolesterol (mg/dl)	190.7±42.4	186.4±43.8	0.502
HDL-K (mg/dl)	46±13.2	45±11.5	0.605
LDL-K (mg/dl)	122.3±40.2	122.4±35.2	0.991
Trigliserid (mg/dl)	165.9±115.1	167.9±91.5	0.396

Sürekli değişkenler ortalama±standart sapma, kategorik veriler n (%) olarak verilmiştir.
n: Örnek sayısı, **p:**Gruplar arası anlamlılık derecesi
HDL-K:Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol, **LDL-K:**Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol.

Glu 298-Asp polimorfizmi genotipleri açısından kritik damar hastalık tutulumlarına göre dağılımı Tablo 17'de gösterilmiştir. Genotip dağılımları, dominant model ve resesif model ile kritik damar tutulumu arasında ilişki analizinde istatiksel anlam bulunmadı (p=0.435; p=0.391; p=0.313).

Tablo 16. Glu 298 Asp dominant modele göre demografik veri karşılaştırması

		GG+GT n=131	TT n=69	p değeri
Yaş		55.7±8.7	55±9.3	0.852
VKI[#]		28.2±4.6	28.2±4.3	0.999
Göbek çevresi		99.6±12.9	99.1±13.9	0.813
Cinsiyet n(%)	**Kadın**	53(%40)	30(%43.4)	0.680
	Erkek	78(%60)	39(%56.6)	
Diyabet n(%)	**Yok**	89(%67.9)	52(%75.3)	0.274
	Var	42(%32.1)	17(%24.7)	
Hipertansiyon n(%)	**Yok**	65(%49.6)	36(%52.1)	0.731
	Var	66(%50.4)	33(%47.9)	
Sigara kullanımı n(%)	**Yok**	78(%59.5)	46(%66.6)	0.324
	Var	53(%40.5)	23(%33.4)	
Aile Öyküsü n(%)	**Yok**	100(%76.3)	54(%78.2)	0.758
	Var	31(%23.7)	15(%21.8)	
Alkol kullanımı n (%)	**Yok**	116(%88.5)	61(%88.4)	0.976
	var	15(%11.5)	8(%11.6)	

[#]**VKI:** Vücut kitle indeksi (kg/m^2) , **n:**Örnek sayısı, **p:** Gruplar arası anlamlılık derecesi
Sürekli değişkenler ortalama±standart sapma, kategorik veriler n (%) olarak verilmiştir.

Tablo 17. Glu 298-Asp polimorfizm genotiplerin damar hastalığına göre dağılımı

Glu 298-Asp	Tek damar n=50	Çok damar n=50	p
GG	28(%56)	29(%58)	0.435
GT	5(%10)	6(%12)	
TT	17(%34)	15(%30)	
Dominant Model			
GG+GT	32(%32)	36(%36)	0.391
TT	18(%18)	14(%24)	
Resesif Model			
TT+GT	24(%24)	19(%19)	0.313
GG	26(%26)	31(%31)	

n:Hasta sayısı, **p:**Gruplar arası anlamlılık derecesi.

Akut Koroner Sendrom Açısından Polimorfizm

Akut koroner sendrom tanısı ile populasyonumuza dahil edilen kişilerin genotip dağılımı Tablo 18 ve 19'de verilmiştir.

Tablo 18. Akut Koroner Sendroma göre T-786 C genotip dağılımı

	CC		**TC**		**TT**	
	Kontrol n=20	**KAH n=48**	**Kontrol n=25**	**KAH n=43**	**Kontrol n=21**	**KAH n=43**
AKS	1(%1.7)	18(%30.5)	2(%3.4)	21(%35.6)	1(%1.7)	16(%27.1)

n:Örnek sayısı, **AKS:** Akut koroner sendrom, **KAH:** Koroner arter hastalığı.

Tablo 19. Akut Koroner Sendroma göre Glu 298-Asp genotip dağılımı

	GG		**GT**		**TT**	
	Kontrol n=32	**KAH n=72**	**Kontrol n=10**	**KAH n=17**	**Kontrol n=24**	**KAH n=45**
AKS	3(%5.1)	33(%55.9)	0	4(%6.8)	1(%1.7)	18(%30.5)

n:Örnek sayısı, **AKS:** Akut koroner sendrom, **KAH:** Koroner arter hastalığı

Tablo 20. Akut Koroner Sendrom ile polimorfizm genotiplerinin karşılaştırması

T-786 C				
AKS	**CC n=68**	**TC n=68**	**TT n=64**	**p**
Hayır	49	45	47	0.620
Evet	19	23	17	
Glu 298-Asp				
AKS	**GG n=104**	**GT n=27**	**TT n=69**	**p**
Hayır	68	23	50	0.120
Evet	36	4	19	

n:Örnek sayısı, **AKS:** Akut koroner sendrom.

Akut koroner sendrom ile polimorfizm ilişkilerini incelediğimizde hem T-786 C polimorfizmi (p=0.620) hemde Glu 298-Asp polimorfizmi (p=0.120) ile akut koroner sendrom arasından istatiksel anlamlı ilişki saptamadık (Tablo 20).

TARTIŞMA

Koroner arter hastalığıtüm dünyada en önemli mortalite ve morbidite nedeni olmaya devam eden bir hastalıktır (16). Nitrik oksitin aterogenez sırasında koruyucu rolü nedeniyle 1990 yıllarından başından itibaren KAH, SVH gibi ateroskleroz sonucu gelişen hastalıklar, DM, HT gibi birçok hastalıkta eNOS geninin Glu 298-Asp (G894T) veya T-786 C polimorfizmlerinin ilişkisi olduğunu düşündüren çalışmalar yapılmıştır (8-11). Biz de eNOS geninin Glu 298-Asp ve T-786 C polimorfizmlerinin KAH ile ilişkisini araştırdık. Bu sayede hastanemizin bulunduğu Trakya bölgesi'ne has hastalık-genetik ilişkisini ve ilave olarak hastalığın öncüsü olabilecek verileri araştırmayı amaçladık.

Çalışmamıza Trakya bölgesinde yaşamakta olan olgular dahil edildi. Bu olgular semptom sonrası hastanemize başvuran, acil servisten veya kardiyoloji polikliniğinden yatışı yapılarak koroner anjiografisi yapılmış kişilerdir. Koroner anjiyografik görüntü kayıtları üzerinden alınan ölçümlere göre KAH (hasta) ve normal (kontrol) olmak üzere iki gruba ayırdık. Bu çalışmamızın sonucunda KAH ile hem eNOS geni T-786 C, hem eNOS geni Glu 298-Asp polimorfizmleri arasında ilişki saptamadık.

Berdelli ve ark.(86) Türk toplumunda eNOS geni Glu 298–Asp polimorfizmi Asp/Asp genotipindeki kişilerle aynı zamanda renin-angiotensin sistem genlerinden ACE DD, AGT MM ya da AT 1AA genotipi taşıyıcısı olanların prematür koroner arter hastalığı riskinin arttığını duyurmuşlardır. Tangürek ve ark. (93) eNOS geni T-786 C mutasyonunun toplumumuzda KAH varlığı ve yaygınlığı için risk faktörü olarak değerlendirilebileceğini bildirmişlerdir. Casas ve ark. (94) 23028 hastalık 26 çalışmayı içeren meta-analizinde Glu 298-Asp polimorfizmi ve intron 4a/4b mutasyonu görülen bireylerde KAH için risk artışı

oluşturduğunu ancak T-786C polimorfizmi ile KAH arasında ilişki olmadığını bildirmişlerdir. Biz çalışmamızda Trakya bölgesinde KAH ile eNOS T-786 C ve Glu 298-Asp polimorfizleri arasında istatiksel ilişki görmedik.

Nakayama ve ark. (87) ise T-786 C mutasyonunu koroner arter spazmı olanlarda ve özellikle miyokart infarktüsü sonrası anjiyografik olarak normal olanlarda anlamlı yüksek bulmuşlardır. Koroner arter lezyonu olmayan ve T-786 C mutasyonu olanlarda koroner arter spazmını intrakoroner asetil kolin ile göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda Kontrol grubu poliklinik veya acil servisten semptom sonrası yatışı yapılarak koroner anjiyografisi yapılan kişiler tarafından oluşturuldu. Normal koroner arter olanlara vazospastik angina için ergonovin testi, intrakoroner asetil kolin testi uygulanmadı. Endotel disfonksiyonu için ek analiz yapılmadı.

Fatini ve ark. (95) 477 adet AKS'li hastada ve 537 kişilik kontrol grubunda eNOS genine ait Glu 298-Asp, intron 4a4b ve T-786C polimorfizmlerini çalışmışlar ve AKS için 4a4b ve T-786C polimorfizmleri ile ilişki saptarken, Glu 298-Asp polimorfizmini bir risk faktörü olarak tespit etmemişlerdir. Bizde çalışmamızda Fatini ve ark.'nın sonuçlarına kısmen paralel olarak Glu 298-Asp ve T-786 C polimorfizmi ile AKS arasında ilişkili bulmadık. AKS'lu hastalarda Glu/Glu genotipine sahip kişilerin sıklığını %38.8, Glu/Asp genotip sıklığını %44.6, Asp/Asp genotip sıklığını ise %16.5 oranında bildirmişlerdir. Çalışmamızda AKS'li hastalarda Glu/Glu (GG) gentotip sıklığını % 61, Glu/Asp (GT) genotip sıklığını %6.8, Asp/Asp (TT) genotipi sıklığını ise %32.2 olarak saptadık. GT ve TT genotiplerinin sıklıklarını normal genotip olan GG'ye kıyasla daha düşük yüzdelerde bulmamız Glu298-Asp varyasyonunun hastalıkla iliskili olmadığını düşündürdü.

Endotelyal nitrik oksit sentaz polimorfizmlerinin KAH için risk faktörü olup olmadığına dair veriler farklı toplumlarda yapılan çalışmalarda farklılık göstermektedir. Fransa (96), İrlanda (96) ve Kanada (97) toplumlarında yapılan çalışmalarda Glu 298-Asp polimorfizmi ile KAH arasında bir korelasyon tespit edilmemiştir. Afrasyap ve ark. (98) Türk toplumunda NO seviyeleri ve Glu 298-Asp polimorfizmi ile KAH arasında ilişki bulamamışlardır. Srivastava ve ark. (99) Hint toplumunda, Jaramillo ve ark. (100) Şili toplumunda yaptıkları çalışmalarda KAH ile eNOS geni Glu Asp-298 polimorfizminin risk faktörü olmadığını duyurmuşlardır. Sriyastava ve ark çalışmasında eNOS geni Glu/Glu, Glu/Asp ve Asp/Asp genotip sıklıkları sırası ile %71.2, %28, %0.7 olarak saptanmıştır. Jaramillo ve ark. çalışmasında ise KAH bulunan Şili'li bireylerde Asp/Asp genotip sıklığını %7, kontrol grubunda ise %1 oranında bulmuştur. Bizim çalışmamızda KAH grubunda

Asp/Asp genotip sıklığını %33.6 bularak diğer çalışmalara kıyasla çok yüksek izledik. Ancak bizim çalısma grubunda yer alan sağlıklı kontrollerin mutant (%24 Asp/Asp) ve heterozigot (%10 Glu/Asp) genotipleri diğer toplumlara göre kısmen yüksek bir oranda rastlanması, Trakya bölgesi halkında Glu 298-Asp mutant gen ve alel sıklılığının fazla olduğunu ancak koroner hastalıkla iliskili olmadığını göstermektedir. Kardiyak semptomu olan tüm hastalarda NO üretiminde bozukluk olup olmadığı ise halen tartışma konusudur

Genetic and Environmental Factors in Coronary Atherosclerosis (GENICA) çalışmasına (101) dahil edilen koroner arter hastaları bir, iki ve üç damar hastası şeklinde sınıflandırılmış T-786 C polimorfizmi ile istatistiksel anlamlılık sınırında bir ilişki saptanmıştı. Çalışmamızda KAH grubunda kritik damar hastalığı olanlar tek, çok damar hastası şeklinde sınıflandırıldığında istatiksel ilişki görülmedi. Aynı yazarlar C allelinin diğer koroner risk faktörleriyle birlikte çok değişkenli lojistik regresyon ile değerlendirmiş, C alleli taşıyan bireylerde KAH riskini 3.6 kat fazla görmüşlerdi. Bizim çalışmamızda CC genotipi koroner arter hastaları grubunda sayıca fazla olmasına rağmen istatiksel fark yaratmadı. En az bir C aleli (CC+TC) KAH grubunda yine sayıca fazla olmasına rağmen istatistiksel fark yoktu. İstatistiksel analizimizde epikardiyal kritik damar lezyonu olanlar ile değerlendirme yaptık. En az bir C aleli (CC+TC) taşıyanlar tek ve damar hastalığı açısından değerlendirildiğinde tek damar hastalığı olanlarda sayıca fazla görüldü ama istatistiksel değer taşımadı. Koroner anjiografi sonrası epikardiyal damarlarda lezyon boyutunu tanımlarken dikkat edeceğimiz bir diğer nokta ise, en doğru ölçüm yöntemini bulmak ve araştırıcılar arası ölçüm farklarını en aza indirebilmek olmalıdır. Damar tutulum sayılarının polimorfizmler ile istatiksel ilişkisinin olmaması, KAH ciddiyeti ile bu mutasyonlar arasında bağlantı olmadığınıda düşündürmektedir.

Hibi ve ark. (102) tarafındanda KAH ile Glu 298-Asp polimorfizmi ilişkilendirilmişti. AMI hastalarında Asp/Asp homozigot frekansı yüksek izlenmişti. Bizim çalışmamızda populasyon seçiminde AMI geçirenler ayrı bir grup olarak incelenmemiş olup, AKS tanısı ile olgumuza dahil edilenlerde Glu 298-Asp polimorfizmi ile AKS arasında istatiksel ilişki saptanmadı ve istatiksel üstünlük sağlayacak allel frekansı görülmedi.

Salimi ve ark. (103) yapmış oldukları çalışmada genetik dışı faktörleri ekarte edebilmek için bütün bireylerden numuneleri aç karnına almış, nitrik oksitin % 90 L-arjinin'den üretilmesi nedeniyle besin kaynaklarını dışlamayı planlanmıştır. Bu çalışmada T-786 C polimorfizmi KAH ve kontrol grupları arasında anlamlı fark görülmüş, C alel sıklığıda KAH grubunda anlamlı yüksek izlenmiş. Çalışmamızda laboratuvar kan analizi için alınan

numunelerin koroner anjiografi öncesi rutin tetkik amaçlı açlık halinde olması gözetilirken, DNA analizi için hastalardan alınan numunelerde açlık veya tokluk gözetilmedi.

İlave olarak Trakya bölgesi için geleneksel KAH risk faktörleride analiz edildi. KAH grubumuz istatiksel anlamlı olarak daha yaşlı idi. Beden kitle indeksleri ve göbek çevreleri hasta grubunda daha yüksek değerlerde olmasına rağmen istatiksel anlam bulunmadı. Demografik ve laboratuar verileri ile değerlendirildiğinde aterosklerotik risk faktörleri olan yaş, erkek cinsiyet, sigara kullanımı, alkol kullanımı, aile öyküsü, HDL-K düşüklüğü, trigliserid yüksekliği gibi etkenler KAH grubunda istatistiksel olarak farklı tespit edildi ($p< 0.05$).

Benjafield ve ark. (104) eNOS Glu 298-Asp polimorfizmi ile serum lipid düzeyleri arasında herhangi bir ilişki bulamazken, Pereira ve ark. (105) total-kolesterol düzeyleri 209 mg/dl' nin üzerinde olan Asp/Asp genotipine sahip kişilerde hipertansiyon riskinin arttığını gözlemişlerdir. Biz çalışmamızda hem T-786 C hem Glu 298-Asp polimorfizmlerinde serum lipid seviyeleri ve hipertansiyon ile anlamlı bir ilişki saptamadık. Ama HDL-K düşüklüğü ve Trigliserid yüksekliği KAH için risk belirteci olarak izlenirken, mutasyonlar ile laboratuvar verileri karşılaştırmalarında istatistiksel anlamda ilişki görülmedi. Laboratuvar analizinde kullanmış olduğumuz verilerin sadece bir ölçüme dayalı olması ve değişken olmasıda sonuçlarımızı ve diğer çalışmaları yanıltabilir. Endotel fonksiyon bozukluğuna yol açan hiperlipidemi ve hipertansiyonun neden olduğu NO-bağımlı vazodilatasyonun bozulmasıyla oluşan hastalıkların derecesi kişiden kişiye değişiklik göstermektedir. Nitekim kardiovasküler risk faktörlerini taşıyan herkes hasta değildir veya bilinen risk faktörlerini taşımayan kişiler hasta olabilir. eNOS ekspresyonunu veya fonksiyonunu etkileyen gen mutasyonları kişilerde endotelyal fonksiyon bozukluğuna ve koroner arter hastalığına direkt sebep olmak yerine, kişileri yatkın hale getiriyor olabilir.

Endotelyal nitrik oksit sentaz polimorfizmlerinin AKS ya da KAH için risk faktörü olup olmadığına dair veriler farklı toplumlarda yapılan çalışmalarda farklılık göstermektedir. Chrysohoou ve ark. (106) Yunanistan'ın Attica bölgesinde 18 yaş ve üzeri 3042 kişinin beş yıl (2001– 2006) izlediği ATTICA çalışmasında T-786 C polimorfizmini; okside LDL-K, lökosit ve fibrinojen yükseklikleri ile ilişkili bularak inflamasyon ve oksidatif stres belirteçleri ile eNOS gen mutasyonu arasındaki ilişkiyi gözlemlediler. Aynı çalışmada homosistein, CRP, amiloid-A seviyelerinde önemsiz ilişkiler görüldü. Ancak T-786C polimorfizminin direkt olarak KAH ile ilişkisini değerlendirmediler. KAH risk faktörü sayılabilecek inflamasyon ve oksidatif stres belirteçlerinin bu çalışmada yüksek oluşu ile mutasyon arasında ilişki kurulsa

da; bu çalışmada anjiografik veri olmayışı hastaların bir çoğunda en baştan ateroskleroz varlığı bilinmediğinden kısıtlılık olarak yorumlandı. Oysa bizim çalışmamızda anjiografik veriler mevcut olup, görsel olarak kanıtlanmıştır. Ancak KAH grubunda LDL-K seviyeleri görece yüksek olmasına rağmen gruplar arasında istatistik değer taşımadı. Dominant gen frekansına göre mutasyonlar ile LDL-K ölçümlerinin analizinde anlamlı fark olacak istatistik değeri görülmedi. Ayrıca çalışmamızda Trakya bölgesinde yaşamakta olan olguların verileri kullanılmış olup bu bölgenin balkan göçmenleri ve ülkenin doğusundan göç eden halkın bir arada yaşadığı bir bölge olduğuda göz önünde bulundurulmalıdır.

Hardy-Weinberg prensibine göre gen frekansını etkileyen faktörler olmazsa populasyonun gen havuzunda alel, genotip ve frekanslar nesiller boyu sabit kalır. Çalışmamızda değerlendirilen polimorfizmleriçin Hardy-Weinberg analizinde p değerleri 0.05 küçük olması nedeniyle H1 hipotezi (populasyonun dengede olmadığı) kabul edildi. Gruplarımızda T-786 C ve Glu 298-Asp allelerinin dağılımlarının Hardy-Weinberg dağılımına uygun olmadıkları gözlendi. Yaptığımız Hardy-Weinberg analizi değerlendirildiğinde çalışmamızda istatistiksel fark bulunamaması Trakya bölgesinde yaşayıpta çalışma grubumuza alınan bireylerin eşlerini rastgele yöresel olmayan bölgeden seçimi, göç alması gibi nedenler ile açıklanabilir. Bu durum çalışmamız için kısıtlılık ve yorumlamada zorluk sebebi olabilir.

Gruplarımız arasında istatiksel farkı olan demografik risk faktörleri fazlaydı. Hem Glu 298-Asp, hem T-786 C polimorfizminin gruplarımızda istatistiksel anlam taşıyacak risk faktörü olarak görülmemesi, değiştirilebilen ateroskleroz faktörlerinin gen polimorfizmine yol açmadığını düşündürmüş, diğer çalışmalardaki KAH risk faktörü teşkil eden polimorfizmlerin çevresel faktörlerden etkilenip etkilenmediğinin tekrar gözden geçirilmesi ihtiyacı olduğunu düşündürmüştür. Aile hikayesinin KAH risk faktöründe istatistiki anlam taşıması sadece çevre faktörlerinin KAH gelişiminde önemli olmadığını, genetiksel etkininde faktör olduğunu kanıtlamıştır. İstatiksel anlam taşımayan risk faktörlerininde KAH grubunda sayıca fazla görülmesi kardiovasküler risk faktörlerine sahip herkesin hastalığa kesin yakalanmadığını veya bilinen risk faktörlerini taşımayan kişilerinde hasta olabileceğini göstermiştir.

Tamemoto ve ark. (107) Japon diyabetik kişilerde Glu 298-Asp polimorfizmi ile iskemik kalp hastalığı ilişkisini araştırmış ve ilişkili bulmuşlardır. Sigara, yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, total kolesterol, HDL-K seviyesi, trigliserid, HT karşılaştırılmış; HDL-K ve diyastolik kan basıncının istatistiksel fark yarattığı görülmüştür. Bizim çalışmamızda bunlara ilave olarak göbek çevresi, alkol kullanımı, aile hikayesi, LDL-K seviyeleride

değerlendirilmiş; trigliserid yüksekliği, alkol kullanımı, HDL-K düşüklüğü, ileri yaş, erkek cinsiyete sahip olmanın istatistiki fark yarattığı görülmüştü. Olgularımızın bir kısmının aktif statin kullanıcısı olması değerlendirmeyi etkilemiş olabilir. Tamemaoto ve ark. çalışmasında alkol kullanımının ve deneklerin diğer olası risk faktörlerinin göz ardı edilmesi bizim çalışmamızla onların çalışması arasındaki fark olarak gözlemlendi. Bizim çalışmamızda Trakya bölgesinde yaşamakta olan olguların verileri kullanılmıştır. Bu bölgenin balkan göçmenleri ve ülkenin doğusundan göç eden halkın bir arada yaşadığı bir bölge olduğu göz önünde bulundurulduğunda; etnik açıdan karma bir örneklemle karşı karşıya olduğumuz ortaya çıkmaktadır. Dolayısı ile etnik çeşitlilik arttıkça, gen havuzundaki çeşitlilikte artacaktır. Çalışmada olguların etnik kökenleri araştırılmamıştır; bu nedenle etnisitenin istatistiksel değerlendirmeyi nasıl etkilediği de bilinmemektedir.

Japonlarda (108,109), Begalusa Kalp Çalışmasında (110) genç afro-amerikalılarda ve beyaz yetişkinlerde T 786-C polimorfizmi ve arteriyal hipertansiyon arasındaki pozitif ilişki bulundu. Çalışmamız populasyonunda HT ile polimorfizmler arasında bir ilişki görmedik. Bu durum farklı populasyonlar arasındaki genetik değişikliklerin yanı sıra farklı fiziksel aktivite düzeyleri, farklı beslenme seçimleri örneğin Akdeniz diyetine bağlılığın düşük kan basıncı ile ilişkisi (111) gibi nedenler ile açıklanabilir.

Diğer yapılan tüm çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızdada eNOS genin diğer genetik varyantları değerlendirilmedi veya göz ardı edildi. Diğer genetik ve genetik olmayan faktörleri de koroner hastalığın ilerlemesi riskini etkileyebilir.

Kontrol grubumuz acil servis ve poliklinik tarafından semptom, labortauvar, EKG tetkikleri sonrası koroner anjiyografi yapılan kişilerden oluşturuldu; anjiyografide epikardiyal damarlarında aterosklerotik plak izlenmeyenler normal olarak sınıflandırıldı. Semptom vermemiş ve epikardiyal damarlarında lezyon saptanmayan kişilerin kontrol grubuna alınması uygun olabilirdi. Kontrol grubuna vasospastik angina veya endotel disfonskiyonu açısından ek test yapılmadı; bu durum eksiklik olarak yorumlanabilir. Olgu sayılarımızın, özellikle kontrol grubunun sayısının az olmasıda çalışmamız açısından bir kısıtlılıktır. İleri populasyon çalışmaları ile Trakya Bölgesi hatta Türkiye genelinde veya coğrafi bölgeler arasında bu mutasyonların KAH ile olan olası ilişkisi ortaya konabilir.

Genetik polimorfizmlerin koroner arter hastalığı etyopatogenezindeki rolü, hala net olmayıp, klinik araştırmalara ek olarak biyokimyasal ve genetik araştırmalara da ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada her ne kadar sonuçları itibari ile eNOS gen mutasyonu ve koroner arter hastalığı yaygınlığı arasında anlamlı ilişki saptamamış olsa da bunun aksi

sonucu olan büyük vaka sayılarına sahip birçok çalışma vardır. Yeterli sayıda hasta örneklemi üzerinden yapılacak daha fazla araştırma gerektirmektedir.

SONUÇLAR

Çalışmamıza 01/06/2013 ile 31/06/2014 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Kardiyoloji Anabilim dalı poliklinik, servis ve yoğun bakım ünitelerine başvuran; koroner arter hastalığı veya akut koroner sendrom (USAP, ST elevasyonlu miyokart infarktüsü, ST elevasyonlu olmayan miyokart infarktüsü) tanıları ile koroner anjiyografi yapılmaya karar verilmiş, bilgilendirilmiş olur formu ile onamı alınmış 200 gönüllü hasta alındı. Sonrasında hastalar epikardiyal damarlarında ciddi lezyonu olan gruplar ile normal koroner arter saptananlar olarak ayırıldı. Demografik verileri, laboratuar verileri, eNOS geni T-786 C ve Glu-298 Asp polimorfizmleri açısından karşılaştırıldı. Bu karşılaştırma sonucunda;

1- T-786 C polimorfizmi ile koroner arter hastalığı arasında ilişki saptanmadı.

2- Glu 298-Asp polimorfizmi ile koroner arter hastalığı arasında ilişki saptanmadı.

İlave olarak;

3- Koroner arter hastalığı grubunda geleneksel risk faktörlerinden ileri yaşın, erkek cinsiyetin, aile hikayesinin, alkol kullanımının, HDL-K düşüklüğünün, trigliserid yüksekliğinin Trakya bölgesi populasyonunda KAH için istatiksel anlam ifade eden bir risk olduğu saptandı.

4- Kritik damar hastalığı varlığı ve damar tutulum sayıları ile T-786 C polimorfizmi arasında istatiksel ilişki saptanmadı.

5- Kritik damar hastalığı varlığı ve damar tutulum sayıları ile Glu 298-Asp polimorfizmi arasında istatiksel ilişki saptanmadı.

6- Koroner arter hastalığı geleneksel risk faktörü olarak nitelendirilen demografik veri ve laboratuar değerlerinde T-786 C polimorfizmi ile istatiksel ilişki saptamadık.

7- Koroner arter hastalığıgeleneksel risk faktörü olarak nitelendirilen demografik veri ve laboratuar değerlerinde Glu 298-Asp polimorfizmi ile istatiksel ilişki saptamadık.

.

ÖZET

Önceki yapılan bir çok çalışmalarda koroner arter hastalığı ile T-786 C ve Glu 298-Asp polimorfizleri arasında ilişki saptanmıştır. Ancak ülkemize ait yeterli çalışmanın olmayışı ve bu konuda Trakya Bölgesine ait çalışmanın olmaması genetik polimorfizlerin yaygınlığını ve kompleksliğini yeterince açıklayamamıştır. Çalışmamızdaki amaç, bölgemizde eNOS geninin Glu 298-Asp ve T-786 C polimorfizmlerinin KAH ile ilişkisini araştırarak, Trakya bölgesi'ne has izlenebilecek hastalık-genetik ilişkisinin öncüsü olabilecek verileri bulmaktır. Kliniğimize koroner anjiyografi amaçlı yatırılmış olan hastaların işlem öncesi alınan rutin laboratuar verileri için ve geleneksel risk faktörleri açısından dosya kayıtları tarandı. Koroner anjiyografik görüntü kayıtları üzerinden ölçümler alındı. Bilgilendirilmiş onam formunu dolduranlardan anjiyografi sonrası genotip analizi için numune alındı. T-786 C ve Glu 298-Asp polimorfizleri ile KAH arasında istatiksel ilişki saptanmadı. İleri yaşın, erkek cinsiyetin, aile hikayesinin, alkol kullanımının, düşük HDL-K seviyelerinin, yüksek trigliserid seviyelerinin Trakya bölgesinde KAH için istatiksel anlam ifade eden bir risk olduğu saptandı. Sonuçlar, vaka sayısı bazında değerlendirildiğinde; istatistiksel anlamlılık arz edebilmesi için daha geniş ölçekli hasta gruplarında yapılacak çalışmalar gereklidir.

Anahtar kelimeler: Endotelyal nitrik oksit sentaz, polimorfizm, alel, koroner arter hastalığı, genetik, nitrik oksit.

INVESTIGATION OF CORONARY ARTERY DISEASE IN OUR REGION ENOS GENE GLU 298 -ASP AND T- 786 C POLIMORPHISM

SUMMARY

Some of the previous have studies demonstrated a relationship between coronary artery disease and T-786 C and Glu 298-Asp polymorphism however there are inadequate data from our country and Trakya region regarding the significance and complexity of this topic. We aimed to evaluate the relationship between coronary artery disease and polymorphism of eNos gene 786 C and Glu 298-Asp in our region thereby to collect and measure disease specific genetic and unique characteristic data from Trakya region. Data were collected from patients files and routine lab biochemical tests of patients who were admitted to our hospital for coronary artery intervention. Sevial measurements were performed on previosly recorded angiograhphic images. Blood samples for genotype analysis werw collected from patients who had beforehand signed the informed consent forms. There was no statistically significant relationship between polymorphism of T-786 C and Glu 298-Asp and coronary artery disease. Older age, male sex, family history, alcohol consumption, low HDL-C levels, high triglycerides level were found to be statistically significant for coronary artery disease in Trakya region. Further detailed and large-scale studies are needed to evaluate this interesting topic.

Key words: Endothelial nitric oxide synthase, polymorphism, allele, coronary artery disease, genetics, nitric oxide

KAYNAKLAR

1. Cabin HS, Clubb. Cardiac pathology and morphology relevant to cardiovascular imaging. In:Gottschalk A, Hoffer PB, Potchen EJ. Diagnostic Nuclear Medicine.2nd ed.Baltimore: Williams&Wilkins; 1988. p.206-23.

2. Kumar A, Cannon CP. Acute coronary syndromes: diagnosis and management, part I. Mayo Clin Proc. 2009;84:917-38.

3. Hamm CW, Möllmann, H, Bassand JP, Van de Werf F. Acute Coronary Syndrom. In: Camm AJ, Lücher TF, Serruys PW, editors. The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine. 2nd ed. New York: Oxford Universty Press; 2009. p. 535-97.

4. Kannel WB. Lipids, diabetes and coronary heart disease: insights from the Framingham study. Am Heart J 1985;110:1100-7.

5. Griffin BP. Kardiyovasküler hastalıklar El Kitabı(Çeviri:Erol Ç).dördüncü basım. Erol Ç, E.Atalar. Ankara: Güneş tıp Kitapevleri 2014; s. 44-64:713-1039.

6. Anderson TJ, Gerhard MD, Meredith IT, Charbonneau F, Delagrange D, Creager MA, et al. Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. Am J Cardiol 1995;23:75(6):71-4.

7. Mansur T. Deri Biyolojisinde ve Tedavisinde Nitrik Oksit. T klin Dermatoloji. 2002;12(5):143-8.

8. Albrecht EW, Stegeman CA, Heeringa P, Henning RH, van Goor H. Protective role of endothelial nitric oxide synthase. J Pathol 2003;199(1):8-17.

9. Lembo G, De Luca N, Battagli C, Lovino G, Aretini A, Musicco M et al.A common variant of endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp) is an independent risk factor for carotid atherosclerosis. Stroke 2001;32:735-40.

10. Miyamoto Y, Saito Y, Kajiyama N, Yoshimura M, Shimasaki Y,Nakayama M et al. Endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with essential hypertension. Hypertension 1998;32:3-8.

11. Yoshimura M, Yasue H, Nakayama M, Shimasaki Y, Sumida H,Sugiyama S, et al. A missense Glu298Asp variant in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm in the Japanese. Hum Genet 1998;103:65-9.

12. Onat A, Cakır H, Karadeniz Y, Donmez İ, Karagoz A, Yuksel M, Can G. Türk yetişkinlerde TEKHARF 2013 taraması ve diyabet prevalansında hızlı artış. Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi 2014;42(6):511-6.

13. Perk J, Backer GD, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren M, et al. Europan Association for Cardiovasculer Prevention & Rehabilition (EACPR); ESC Commitee for Practice Guidelines (version 2012).Eur Heart J 2012;33(13):1635-701.

14. Napoli C, D'Armiento FP, Mancini FP, PostiglioneA, Witztum JL, Palumbo G et al: Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia: Intimal accumulation of LDL and its oxidation prcedemonocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. J ClinInvest. 1997;100:2680-90.

15. Erol Ç. Klinik Kardiyoloji. Ankara:Nobel Tıp Kitabevi 2011:s. 1-2.

16. Gimbrone MA Jr. Vascular endothelium, hemodynamic forces and atherosclerosis. Am J Pathol 1999;155:1-5.

17. Murphy JG, Mayo clinic Cardiology review. The Endothelium. 2nd Ed. Rochester, Minnesota: Mayo Clinic Scientific pres, 2003.p.99-106.

18. Mann DL, ZipesPD, Libby P, BonowOR. Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine. 10 th edition.2015;41:878

19. Krishnaswamy A, Kapadia SR. Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı (çeviri: H.Aksoy). Aksoy H, Atalar E (Editör). Üçüncü basım. Ankara: Güneş Kitabevleri; 2010.s.77.

20. Türk Kardiyoloji Derneği Koroner Kalp Hastalığı Koruma ve Tedavi Kılavuzu 2002.

21. Onat A, Turkmen S, Karabulut A, Yazıcı M, Can G, Sansoy V. Türk yetişkinlerde hiperkolesterolemi ve hipertansiyon birlikteliği: sıklığına ve kardiyovasküler riski öngördürmesine ilişkin TEKHARF çalışması verileri. Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi 2004;32(8):533-41.

22. Wisler RW, Strong JP. Risc factors and progression of atherosclerosis in youth. PDAY Reseach Group: Patholodical Determinants of atheroslerosis in youth. Am J Pathol. 1998;153:1023-33.

23. Çengel A. Kadınlarda Kardiyovasküler Risk faktörleri. Türk Kardiyol Dern Arş 2010; 38:17.

24. Diyabetes mellitus çalışma grubu, altıncı basım. Diyabetes mellitus ve komlikasyonları tanı, tedavi ve izlem kılavuzu-2013.s. 15-123.

25. Avrupa Hipertansiyon Derneği (ESH) ve Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) arteriyel hipertansiyon görev grubu. 2013 ESH/ESC Arteriyel Hipertansiyon Kılavuzu.s. 7.

26. Altun B, Arici M, Nergizoğlu G, Derici U, Karatan O, Turgan C, et al; for the Turkish society of Hypertension and Renal Diseases. Prevelance, awareness, treatment and control of hypertension in Turkey (the PatenT study) in 2003. J Hypertens 2005;23(10):1817-23.

27. Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K, Boysen G, Burell G, Cifkova R, et all. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: executive summary. Fourth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by

representatives of nine societies and by invited experts). Eur J Cardiovasc Prev Rehabil. 2007;14:1-40.

28. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, lanas F, et al. INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. Lancet 2004; 364(9438):937-52.

29. World Health Organization. Reducing risks, promoting healthy life. The World Health Report 2002. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2002.

30. Third Report of National Cholesterol Education Prıgram (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, abd Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adults Treatment Panel III) final report. Circulation 2002;106: 3143-421.

31. Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C et al. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. Lancet 2005;366:1267-78.

32. Brewer HB Jr. Increasing HDL Cholesterol Levels. N Engl J Med 2004;350:1491-4.

33. European association for Cardiovasculer Prevention & Rehabilitation (EACPR); ESC Committee for Practice Gudielines (CPG). European Guidelines on cardiovasculer disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). France: Eur Heart J 2012;33(13):1635-701.

34. Mahonen MS, McElduff P, Dobson AJ, Kuulasmaa KA, Evans AE. Current smoking and the risk of nonfatal myocardial infarction in the WHO MONICA Project populations. Tob Control 2004:13(3):244-50.

35. Bui AL, Horwich TB, Fonarow GC. Epidemiology and risk profile of hearth failure. Nat Rev Cardiol 2011;8(1):30-41.

36. Chamberlain AM, Agarwal SK, Folsom AR, Duval S, Soliman EZ, Ambrose M, et al. Smoking and incidance of atrial fibrillation: results from the Ateosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. Heart Rhythm 2011;8(8):1160-6.

37. Schoenenberger AW, Radovanovic D, Stauffer JC, Windecker S, Urban P, Niedermaier G, et al. Acute coronary syndromes in youg patients: presentation, treatment and outcome. Int J Cardiol 2011;148(3):300-4.

38. Bazzano LA, He J, Muntner P, Vupputuri S, Whelton PK. Relationship between cigarette smoking and novel risk factors for cardiovascular disease in the United States. Ann Intern Med. 2003;138:891-7.

39. Williams RR, Hopkins PN, Wu LL, et al. Evaluating family history to prevent early coronary heart disease. In: Person TA, ed. Primer in preventive Cardiology.Dallas: American Heart Association; 1994: 93.

40. Griffin BP, Topol EJ. Kardiyovasküler hastalıklar El Kitabı (çeviri: Atalar E),üçüncü basım. Ankara: Güneş tıp Kitabevleri 2010;588 .

41. Kraus WE, Hourmard JA, Duscha BD, Knetzger KJ, Wharton MB, McCartney JS, et al. Effects of the amount and intensity of intensity of exercise on plasma lipoproteins. N Engl J Med 2002;347(19):1483-92.

42. Ring-Dimitriou S, VonDuvillard SP, Paulweber B, Stadlmann M, Lemura LM, Peak K, et al. Nine months aerobic fitness induced changes on blood lipids and lipoproteins in untrained subjects versus controls. Eur J Appl Physol 2007;99(3):291-9.

43. Leon AS, Rice T, Mandel S, Despres JP, Bergeron J, Gagnon J, et al. Blood lipid response to 20 weeks of supervised exercise in a large biracial population: the HERITAGE Family Study. Metabolism 2000;49(4):513-20.

44. Fletcher GF, Balady GJ, Amsterdam EA, Chaitman B, Eckel R, Fleg J, et al. Exercise standarts for testing and training: a statement for healtcare professionals from the American Heart Association. Circulation 2001;104(14):1694-740.

45. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reaktive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovasküler disease in women. N Engl J Med.2000;342:836-43.

46. Bønaa KH, Njølstad I, Ueland PM, Schirmer H, Tverdal A, Steigen T, et al. Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infaction. N Engl J Med.2006:354:1578-88.

47. Toole JF, Malinow MR, Chambless LE, Spence JD, Pettigrew LC, Howard VJ, et al. Loweirng homocysteine in patiens with iscemik stroke,myokardial infarktion and death: the Vitamin intervention for store Prevention (VISP) randomized controlled trial.JAMA. 2004;291:565-75.

48. Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ, Sheridan P, Pogue J, Micks M, et al. For the Heart Outcomes Prevention Evalution (HOPE) 2 ınvestigators. Homocysteine lowering with folic asis and B vitamins in vasculer disease. N Eng J Med 2006:354:1567-77.

49. Brennan ML, Penn MS, Van Lente F, Nambi V, Shishehbor MH, Aviles RJ, et al. Prognostik value of myeloperoxidase in pateients with chest pain. N Eng J Med 2003:349:1595-604.

50. Wang L, Fan C, Topol SE, Topol EJ, Wang Q. Mutation of MEF2A in an inherrited disorder with features of coronary artery disease. Science 2003;302:1578-81.

51. Lieb W, Mayer B, König IR, Borwitzky I, Götz A, Kain S, et al. Lack of association between the MEF2A gene and Myocadiyal infarction.Circulation.2008:117:185-19.

52. Topol E. Cardiovascular medicine (çeviri: Kozan Ö). Kozan Ö. İstanbul: Güneş tıp kitabevi, 2008:s.1227-28.

53. Kaminski MA, Dislipidemi (çeviri: Şabanov C). Atalar E. üçüncü basım, Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı. Ankara:Güneş Kitabevleri; 2010.s.564-77.

54. Adalet K.Klinik kardiyoloji. İstanbul Tıp Kitabevi 1.basım 2013:166-71.

55. Weintraub WS, Mauldin PD, Becker E, Kosinski AS, King SB. A comparison of the costs of and quality of life after coronary angioplasty or coronary surgery for

multivessel coronary artery disease. Results from the Emory Angioplasty Versus Surgery Trial (EAST). Circulation. 1995;92:2831-40.

56. Candan İ, Oral D, Kardiyoloji. Ankara: ANTIP A.Ş. 2002; 227-70 .

57. Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, Andreotti F, Arden C, Budaj A, et al. Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) Kararlı Koroner Arter Hastalığı Yönetimi Görev Grubu. 2013 ESC Kararlı Koroner Arter Hastalığı Yönetimi Kılavuzu. Türk Kardiyol Dern Arş 2014, Suppl. 4.

58. James S, Atar D, Badano L, Blömstrom-Lundqvist C, Borger MA, et al. European Society of Cardiology (ESC). Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation (2012 version). The Task Force on the management of ST-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology (ESC).European Heart Journal 2012;33:2569-619.

59. Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, Bax J, Boersma E, Bueno H et al. Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation (2011 version). The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). Euro Heart Journal 2011;32:2999-3054.

60. Windecker S, Kolh P, Alfonso F, Collet JP, Cremer J, Falk V, et al. ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization (2014 version). The task force on myocardial revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). European Heart Journal 2014;35:2541-619.

61. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature 1980;288(5789):373-6.

62. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. Nature 1988;333(6174):664-6.

63. Napoli C, de Nigris F, Williams-Ignarro S, Pignalosa O, Sica V, Ignarro LJ. Nitric oxide and atherosclerosis: an update. Nitric Oxide 2006;15(4):265-79.

64. Marin J, Rodriguez-Martinez MA. Role of vascular nitric oxide in physiological andpathological conditions. Pharmacol Ther 1997;75(2):111-34.

65. Murray RK, Muscle. In, Murray RK, Granner OK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry. Twenty-fourth edition Appleton & Lange 1996:686-706.

66. Anggard E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. Lancet. 1994 May 14;343(8907):1199-206.

67. Albrecht EW, Stegeman CA, Heeringa P, Henning RH, van Goor H. Protective role of endothelial nitric oxide synthase. J Pathol 2003;199(1):8-17

68. Aladağ MA, Türköz Y, Özerol İH. Nitrik Oksit ve Nörofizyopatolojik Etkileri. T Klin Tıp Bilimleri 2000;20:107-11.

69. Demopoulos VP, Olympios CD, Fakiolas CN, Pissimissis EG, Economides NM, Adamopoulou E, et al. The natural history of aneurysmal coronary artery disease. Heart 1997;78(2):136-41.

70. Atalık K, Dogan N. Nitrik Oksit ve Fizyolojik Etkileri. Genel Tıp Derg 1997;7(3):167-9.

71. Cekmen MB, Turgut M, Türköz Y, Aygün AD, Gozukara EM. Nitrik oksit (NO) ve nitrik oksit sentaz (NOS)'ın fizyolojik ve patolojik özellikleri. T Klin Pediatri 2001;10:226-35.

72. Marsden PA, Heng HH, Scherer SW, Stewart RJ, Hall AV, Shi XM, et al. Structure andchromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthasegene. J Biol Chem 1993;268(23):17478-88.

73. Davies PF. Multiple signaling pathways in flow-mediated endothelial mechano transduction: PYK-ing the right location. Arterioscler Thromb Vasc Biol2002;22(11):1755-7.

74. Marin J, Rodriguez-Martinez MA. Role of vascular nitric oxide in physiological and pathological conditions. Pharmacol Ther 1997;75(2):111-34.

75. Kawashima S. Malfunction of vascular control in lifestyle-related diseases: endothelial nitric oxide (NO) synthase/NO system in atherosclerosis. J Pharmacol Sci 2004;96(4):411-9.

76. Carreau A, Kieda C, Grillon C. Nitric oxide modulates the expression of endothelialcell adhesion molecules involved in angiogenesis and leukocyte recruitment. Exp Cell Res 2011;317(1):29-41.

77. Michelson AD, Benoit SE, Furman MI, Breckwoldt WL, Rohrer MJ, Barnard MR, etal. Effects of nitric oxide/EDRF on platelet surface glycoproteins. Am J Physiol. 1996;270(5 Pt 2):1640-8.

78. Patel RP, Levonen A, Crawford JH, Darley-Usmar VM. Mechanisms of the pro-andanti-oxidant actions of nitric oxide in atherosclerosis. Cardiovasc Res 200018;47(3):465-74.

79. Anggard E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. Lancet 1994;343(8907):1199-206.

80. Hartog JW, Voors AA, Bakker SJ, Smit AJ, van Veldhuisen DJet al.Advanced glycation end-products (AGEs) and heart failure:pathophysiology and clinical implications.Euro J Heart Fail 2007;9(12):1146.

81. Başaran N. Tıbbi Genetik Ders Kitabı. Ankara: Güneş ve Nobel tıp kitabevleri; 1999,120-131.

82. Oraler G. I. Temel Genetik. Sekizinci Basım. İÜ Fen Fakültesi, İstanbul. 1990;215(51-52):248-9

83. Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J, Lyon A, Monteith S, Parsons A, et al. A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298-->Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. Circulation. 1999;100(14):1515-20.

84. Marsden PA, Heng HHQ, Scherer SW, Stewart RJ, Hall AV, Shi XM, et al. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. J Biol Chem 1993;268:17478-88.

85. Tajouri L, Martin V, Ovcaric M, Curtain RP, Lea RA, Csurhes P, et al. Investigation of an inducible nitric oxide synthase gene (NOS2A) polymorphism in a multiple sclerosis population. Brain Res Bull 2004;64(1):9-13.

86. Berdeli A, Sekuri C, Sirri Cam F, Ercan E, Sagcan A,Tengiz I, et al. Association between the eNOS(Glu298Asp) and the RAS genes polymorphisms and premature coronary artery disease in a Turkish population.Clin Chim Acta 2005;351:87-94.

87. Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M, Shimasaki Y,Ogawa H, Kugiyama K, et al. T786C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with myocardial infarction, especially without coronary organic stenosis. Am J Cardiol 2000;86:628-34.

88. Veldman BA, Spiering W, Doevendans PA, Vervoort G, Kroon AA, de Leeuw PW, et al. The Glu298Asp polymorphism of the NOS 3 gene as a determinant of the baseline production of nitric oxide. J Hypertens 2002;20(10):2023-7

89. Wattanapitayakul SK, Mihm MJ, Young AP, Bauer JA. Therapeutic implications of human endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism. Trends Pharmacol Sci 2001;22(7):361-8.

90. Tesauro M, Thompson WC, Rogliani P, Qi L, Chaudhary PP, Moss J. Intracellular processing of endothelial nitric oxide synthase isoforms associated with differences in severity of cardiopulmonary diseases: cleavage of proteins with aspartate vs. glutamate at position 298. Proc Natl Acad Sci U S A 2000;97(6):2832-5.

91. Guldiken B, Sipahi T, Guldiken S, Ustundag S, Budak M, Turgut N, et al. Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene in Turkish patients with ischemic stroke. Mol Biol 2009;36:1539-43.

92. Khaki-Khatibi F, Yaghoubi AR, Ghojazadeh M, Rahbani-Nobar M. Association between T-786 C polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene and level of the vessel dilation factor in patiens with coronary artery disease. Moleculer Biology Research Communications 2012;1:1-7.

93. Tangürek B, Özer N, Sayar N, Terzi S, Yılmaz HY, Asiltürk R, et al. The relationship between endothelial nitric oxide syntase gene polymorphism (T-786 C) and coronary

artery disease in a Turkish population. Türk Kardiyol Dern Arş-Arch Turk Soc Cardiol 2005;33(8):467-72.

94. Casas JP, Bautista LE, Humphries SE, Hingorani AD. Endothelial nitric oxide synthase genotype and ischemic heart disease: meta-analysis of 26 studies involving 23028 subjects. Circulation 2004;109:1359-65.

95. Fatini C, Sofi F, Sticchi E, Gensini F, Gori AM, Fedi S, Lapini I, Rostagno C, Come M. Bro D, Gensini G, Abbate R. Influence of endothelial nitric oxide synthase gene poliymorphisms (G894T, 4a4b, T-786C) and hyperhomocysteinemia on the predisposition to acute coronary syndromes. Am Heart J 2004;147:516-21.

96. Poirier O, Mao C, Mallet C, Nicaud V, Herrmann SM, Evans A, Ruidavets JB. Polymorphism of the endotelial nitric oxide synthase gene-no consistent association with myocardial infarction in the ECTİM study. Eur J Clin Invest 1999;29:284-90.

97. Nassar BA, Bevin LD, Johnstone DE, O'neil BJ, Bata IR, Kirkland SA, Title LM. Relationship of the Glu 298 Asp polymorphism of the endotelial nitric oxide synthase 47 gene and early-onset coronary artery disease. Am Heart J 2001;142:586-9.

98. Afrasyap L, Ozturk G. NO level and endothelial NO synthase gene polymorphism (Glu298Asp) in the patients with coronary artery disease from the Turkish population. Acta Biochim Biophys Sin 2004;36:661-6.

99. Srivastava K, Biswas UK, Narang R, Varghese JJ, Das N. Prevalence of eNOS Glu 298-Asp polymorphism in healty volunteers from region or Northern India. Community Genet 2005;8(3):180-3.

100. Jaramillo PC, Mumoz MA, Lanas MC, Lanas ZF, Salazar LA. Endothelial nirtic oxidesynthase G894T gene polymorphism in Chilean subjects with coronary artery disease and controls. Clin Chem Acta2006;371:102-6.

101. Rossi GP, Cesari M, Zanchetta M, Colonna S,Maiolino G, Pedon L, et al. The T-786C endothelial nitric oxide synthase genotype is a novel risk factor for coronary artery disease in Caucasian patients of the GENICA study. J Am Coll Cardiol 2003:41:930-7.

102. Hibi K, Ishigami T, Tamura K, Mizushima S, Nyui N, Fujita T et al. Endothelial nitric oxide gene polymorphism and acute myocardial infarction, Hypertension 1998;32:521-6.

103. Salimi S, Naghavi A, Firoozrai M, Zand H, Tavilani H, Nakhaee A, Mohebb A. Association of plasma nitric oxide concentration and endothelial nitric oxide synthase T-786C gene polymorphism in coronary artery disease. Pathophysiology 2012;19:157-62.

104. Benjafield AV, Morris BJ. Association analyses of the endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism in essential hypertension. Am J Hypertens 2000;13:994-8.

105. Perira AC, Sposito AC, Mota GF, Cunha RS, Herkengof FL, Mill JG, Krieger JE. Endotelial nitric oxide synthase gene variant modulates the relationship betwen serum cholasterol levels and blood pressure in the general population: new evidence for a direct effect of lipid in the arterial blood pressure. Atherosclerosis. 2006;184:193-200.

106. Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Antoniades C, Skoumas J, Brown M et al. Evidence for association between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (G894T) and inflammatory markers: The ATTICA study. Am Heart J 2004;148(4):733-8.

107. Tamemoto H, Ishikawa S, Kawakami M. Association of the Glu298Asp polymorphism of the eNOS Gene with ischemic heart disease in Japanese diabetic subjects. Diabetes researrch and clinical practise 2008;80:275-9.

108. Forte P, Copland M, Smith LM, Milne E, Sutherland J, Benjamin N. Basal nitric oxide synthesis in essential hypertension. Lancet 1997;349:837-42.

109. Miyamoto Y, Saito Y, Kajiyama N, Yoshimura M, Shimasaki Y, Nakayama M, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with essential hypertension. Hypertension 1998;32:3-8.

110. Chen W, Srinivasan SR, Elkasabany A, Ellsworth DL, Boerwinkle E, Berenson GS. Combined effects of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (G894T)

and insulin resistance status on blood pressure and familial risk of hypertension in young adults: the Bogalusa Heart Study. Am J Hypertens 2001;14:1046-52.

111. Panagiotakos DB, Pitsavos CH, Chrysohoou C, Skoumas J, Papadimitriou L, Stefanadis C, et al. Status and management of hypertension in Greece: role of the adoption of a Mediterranean diet. The ATTICA study. J Hypertens 2003;21:1483-9.

EKLER

Ek 1

T.C. TRAKYAÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-GOKAEK 2013/91	
	PROTOKOL ADI	Bölgemizde Koroner Arter Hastalarında ENOS Geninin. Glu 298 –Asp ve T-786 –C Polimorfizmlerinin Araştırılması	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Yrd. Doç. Dr. Nasır SİVRİ	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası
KARAR BİLGİLERİ	**Karar No: 05/09**	**Tarih:18.03.2015**	
	Fakültemiz Kardiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Nasır SİVRİ'nin sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Araş. Gör. Dr.Yücel KAÇMAZ'ın tez çalışmasının önemli değişiklik başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmanın sorunlusunun Prof. Dr. Yekta GÜRLERTOP olarak değiştirilmesinin uygun olduğuna mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.	
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-BAEK Yönergesi		

ÜYELER

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ülfet VATANSEVER ÖZBEK Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	K	E☐ H☐	E☐ H☐	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Başkan Yardımcısı	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E☐ H☒	E☒ H☐	
Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ Üye	Tıbbi Farmakoloji.	T.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D	E	E☐ H☐	E☐ H☐	Mazeretli
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. BiyoistatistikA.D.	K	E☐ H☒	E☒ H☐	
Yrd. Doç. Dr. Hilmi TOZKIR Üye	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E☐ H☒	E☒ H☐	
Doç. Dr. Hasan ÜMİT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E☐ H☒	E☒ H☐	
Doç. Dr. Selma Arzu VARDAR Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	K	E☐ H☐	E☐ H☐	Mazeretli
Doç. Dr. Salim DÖNMEZ Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E☐ H☒	E☒ H☐	
Prof. Dr. Muzaffer ESKİOCAK Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	K	E☐ H☒	E☒ H☐	
Prof. Dr. Koray ELTER Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E☐ H☐	E☐ H☐	Mazeretli
Yrd. Doç. Dr. Rugül KÖSE ÇINAR Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağ. ve Has. A.D.	K	E☐ H☒	E☒ H☐	
Doç. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	E	E☐ H☐	E☐ H☐	Mazeretli
Doç. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E☐ H☐	E☐ H☐	
Prof. Dr. Berkan DEMİRAL Üye		T.Ü. İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi	E	E☐ H☒	E☒ H☐	
Avukat Baki KURNAZ Üye		T.Ü. Rektörlüğü	E	E☐ H☐	E☐ H☐	Mazeretli

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Recep YAĞIZ
Dekan

T.C. TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-GOKAEK 2013/91	
	PROTOKOL ADI	Bölgemizde Koroner Arter Hastalarında ENOS Geninin, Glu 298 –Asp ve T-786 –C Polimorfizmlerinin Araştırılması	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Yrd. Doç. Dr. Nasır SİVRİ	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası

KARAR BİLGİLERİ	**Karar No: 10/17** **Tarih:08.05.2013**
	Fakültemiz Kardiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Nasır SİVRİ'nin sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Araş. Gör. Dr.Yücel KAÇMAZ'ın tez çalışmasının önemli değişiklik başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.
ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-BAEK Yönergesi

ÜYELER

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ülfet VATANSEVER ÖZBEK Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	K	E☐ H☐	E☐ H☐	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Başkan Yardımcısı	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E☐ H☒	E☒ H☐	
Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ Üye	Tıbbi Farmakoloji.	T.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D	E	E☐ H☐	E☐ H☐	Mazeretli
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. BiyoistatistikA.D.	K	E☐ H☒	E☒ H☐	
Yrd. Doç. Dr. Hilmi TOZKIR Üye	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E☐ H☐	E☐ H☐	İzinli
Doç. Dr. Hasan ÜMİT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E☐ H☒	E☒ H☐	
Doç. Dr. Selma Arzu VARDAR Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	K	E☐ H☐	E☐ H☐	
Doç. Dr. Sedat ÜSTÜNDAĞ Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E☐ H☐	E☐ H☐	İzinli
Doç. Dr. Burcu TOKUÇ Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	K	E☐ H☐	E☐ H☐	
Prof. Dr. Koray ELTER Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E☐ H☒	E☒ H☐	
Yrd. Doç. Dr. Rugül KÖSE ÇINAR Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağ. ve Has. A.D.	K	E☐ H☐	E☐ H☐	İzinli
Prof. Dr. Recep YAĞIZ Üye	Kulak Burun ve Boğaz	T.Ü.T.F. Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları A.D.	E	E☐ H☒	E☒ H☐	
Doç. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E☐ H☐	E☐ H☐	İzinli
Prof. Dr. Berkan DEMİRAL Üye		T.Ü. İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi	E	E☐ H☒	E☒ H☐	
Avukat Baki KURNAZ Üye		T.Ü. Rektörlüğü	E	E☐ H☐	E☐ H☐	İzinli

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Recep YAĞIZ
Dekan a.
Dekan Yrd.

Ek 2

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Bu araştırmanın yürütülmesi, Trakya Üniversitesi Girişimsel olmayan klinik araştırmalar Etik Kurulu'nun …… tarih ve …….. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır.

Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

Araştırma kapsamında yapılan işlemlerin mali giderleri araştırmacılar ya da destekleyici (AÇIK AD) tarafından karşılanacak olup size ya da sosyal güvenlik kurumunuza hiçbir mali yük getirmeyecektir.

Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün. Açık olmayan bir bölüm varsa ya da daha ayrıntılı bilgiye ihtiyaç duyuyorsanız ya da araştırmaya katılmaya gönüllü oluktan sonra soracağınız sorular varsa 0505 526 78 71 numaralı cep telefonundan Dr. Yücel Kaçmaz'a başvurabilirsiniz.

1. **Araştırmayla İlgili Bilgiler:**
   - **a. Araştırmanın bilimsel adı:** Bölgemizde koroner arter hastalarında eNOS geninin Glu 298-Asp ve T 786-C polimorfizimlerinin araştırılması.
   - **b. Araştırmanın anlaşılabilir basit adı:** Trakya Bölgesinde Koroner Arter (kalp atardamarı) Hastalarında eNOS gen polimorfizmlerinin (kuşaktan kuşağa geçen kalıtımsal öğenin farklılık ve şekillikte olması) araştırılması.
   - **c. Sorumlu Araştırmacının adı ve görev yeri:** Yrd. Doç Dr. Nasır Sivri T.Ü.T.F. Kardiyoloji Anabilim Dalı
   - **d. Araştırmanın içeriği:** Bu çalısmada, koroner arter hastalıgı (KAH) tanısı konmus hastalardan ve sağlıklı bireylerden kan örnekleri alınarak, eNOS geni Glu 298-Asp ve T 786-C polimorfizimlerinin hastalık oluşumu üzerindeki etkilerini her iki grup üzerinde karşılaştırmalı olarak araştırmaktır.
   - **e. Araştırmanın amacı:** Koroner Arter Hastalığı (KAH), multifaktöriyel(çok etkenli) bir hastalık olup hem çevresel hem de genetik faktörler etyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. KAH'nın patogezine(hastalık oluşum mekanizması) katkıda bulunan aday genleri çalışmak, KAH'nın etyolojisini anlaşılmasına yardımcı olabilir. Bu çalısmada amacımız, koroner arter hastalıgı tanısı konmus hastalarda eNOS geni Glu 298-Asp ve T 786-C polimorfizimlerinin hastalık oluşumu üzerindeki ve biyokimyasal parametrelere olan etkileri arastırmaktır.
   - **f. Araştırmanın niteliği (Klinik, Laboratuvar, Epidemiyolojik - Tez çalışması vb….):** Klinik ve laboratuvar çalışması
   - **g. Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi: 01/06/2013 ---- 12 AY**
   - **h. Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı:** 200 olgu

i. **Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni:** KAH grubu için 18-65 yaş arası olması, KAH şüphesi veya tanısı ile koroner anjiografi yapılacak olan hastalardan olması, malignite tanısı almamış olması, kontrol grubu için 18-65 yaş arası olması, herhangi bir KAH şüphesi veya tanısı olmaması, malignite tanısı almamış olması şartları aranacaktır.

j. Araştırmada uygulanacak yöntemler: Olgulardan kan örneği alınarak laboratuvar şartlarında çalışılacaktır.

2. **Uygulama Sırasında Karşılaşabileceğiniz Riskler ve Rahatsızlıklar:** Yapacağımız çalışmada sadece olguların kan örnekleri kullanılacağından çalışmaya alınan olgulara herhangi bir risk getirmeyecektir.Ancak damara girilerek kan alınacağından damarda patlama (zedelenme),kan tutması olanlarda bayılma riski vardır.
3. **Gönüllü İçin Araştırmadan Beklenen Yarar:** KAH hastalığını ortaya çıkmasına etken olan genetik faktörlerin araştırılarak bu hastalığın oluşum mekanizmalarının öğrenilmesi ileride bu hastalığının tanı ve tedavi süreçlerin etkili olacağı düşüncesindeyiz.
4. **Araştırmaya Seçenek Olan Diğer Girişimler:**
5. **Zararların Tazmini ve Araştırma Konusundaki Diğer Soruların Cevaplandırılması:**
   a. Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ile bir hasta olarak hakları konusunda bilgi almak için bağlantı kurulacak kişinin adı-soyadı, ünvanı, görev yeri ve telefon numarası. Araş.Gör. Dr. Yücel Kaçmaz T.Ü.T.F. Kardiyoloji Anabilim Dalı 0505 526 78 71
6. **Araştırma Giderleri ve Bütçesi:**
7. **Gönüllülük, Çalışmayı Reddetme ve Çalışmadan Çekilme Hakkı, Çalışmadan Çıkarılma:**
8. **Kimlik bilgilerinin ve elde edilen verilerin gizliliği nasıl sağlanacak?** Hastaların isim ve soyisim baş harfleri ve protokol numaraları kullanılacak. Kimlik bilgileri kullanılmayacak.
9. **Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi?** Gönüllünün bilgi almayı istemesi halinde bilgi verilecektir.

GÖNÜLLÜNÜN ÇALIŞMAYA KATILMA ONAYI

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amacla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.

Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı.

Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.

Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı.

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında ol nüllü olarak katılıyorum.

Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

Sorumlu araştırmacı / hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.

Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmalim nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.

Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Gönüllü Bilgilendirme Formu adlı metni kendi anadilimde okudum.

Bu bilgilerin içeriği ve anlamı, yazılı ve sözlü olarak açıklandı.

Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım.

Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bu metnin imzalı bir kopyasını aldım.

Gönüllünün; (El yazısı ile)

Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....

.....

Tarih:

Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için; (El yazısı ile)

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....

.....

Tarih:

Açıklamaları Yapan Araştırmacnın Adı- Soyadı: (El yazısı ile)

İmzası:

Tarih: